

## 肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動が 血中アミノ酸に及ぼす影響

著者	妙?園 香苗
発行年	2020
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2019
報告番号	12102甲第9601号
URL	<a href="http://doi.org/10.15068/00160607">http://doi.org/10.15068/00160607</a>

博士学位論文

肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動が  
血中アミノ酸に及ぼす影響

令和元年度

筑波大学大学院人間総合科学研究科スポーツ医学専攻

妙圓園 香苗

## 目次

### 研究業績

#### 第1章 序論

1-1 本研究の背景	1
1-2 本研究の仮説	4
1-3 本研究の目的	5
1-4 本研究の意義	5

#### 第2章 文献研究

2-1 我が国における肥満	6
2-2 肥満と疾患の関連性	7
2-3 肥満と糖尿病	9
2-4 肥満に対する減量方法	11
2-5 血中アミノ酸濃度	
2-5-1 生体におけるアミノ酸の役割	12
2-5-2 アミノ酸の代謝	16
2-5-3 血中アミノ酸濃度と疾患	18
2-5-4 血中アミノ酸濃度と肥満	19
2-5-5 血中アミノ酸濃度と外科的治療による減量	20
2-5-6 血中アミノ酸濃度と食習慣	21
2-5-7 血中アミノ酸濃度と運動習慣	22
2-6 分岐鎖アミノ酸と代謝	
2-6-1 骨格筋におけるタンパク質代謝	23

2-6-2	分岐鎖アミノ酸の代謝	24
2-6-3	3-HIB の働き	27
2-6-4	3-HIB と減量	28
第 3 章 本研究の構成		29
第 4 章 研究課題 1: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の 併用介入が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響		
4-1	諸言	32
4-2	方法	
4-2-1	対象者	32
4-2-2	介入方法	33
4-2-3	測定項目	34
4-2-4	統計処理	36
4-3	結果	37
4-4	考察	44
4-5	まとめ	48
第 5 章 研究課題 2: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の 単独介入が血中 BCAA 濃度に及ぼす影響		
5-1	諸言	49
5-2	方法	
5-2-1	対象者	49
5-2-2	介入方法	50

5-2-3	測定項目	51
5-2-4	統計処理	53
5-3	結果	55
5-4	考察	65
5-5	まとめ	69
第 6 章 研究課題 3: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の 単独介入が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響		
6-1	諸言	70
6-2	方法	
6-2-1	対象者	71
6-2-2	介入方法	71
6-2-3	測定項目	72
6-2-4	統計処理	76
6-3	結果	77
6-4	考察	85
6-5	まとめ	88
第 7 章 総合討論		89
第 8 章 結論		95
謝辞		96
参考文献		97

## 研究業績

この論文は下記の研究業績に未発表の実験結果がまとめられている。

### 【原著論文】

- 1) **Kanae Myoenzono**, Toru Yoshikawa, Hiroshi Kumagai, Asako Zempo-Miyaki, Rina So, Takehiko Tsujimoto, Youngju Choi, Kiyoji Tanaka, Seiji Maeda. Changes in plasma amino acid concentrations in overweight and obese men after weight loss program including dietary modification and aerobic exercise. *J Phys Fitness Sports Med.* 9 (2): 43-51, 2020. doi: 10.7600/jpfsm.9.43.
  
- 2) **Kanae Myoenzono**, Toru Yoshikawa, Jiyeon Park, Teruo Miyazaki, Akira Honda, Nobutake Shimojo, Seiji Maeda. Effect of aerobic exercise training on plasma 3-Hydroxyisobutyrate concentration in overweight and obese men. *Adv Exerc Sport Physiol.* 2019 (in press).

## 第1章 緒言

### 1-1 本研究の背景

医学誌 Lancet に掲載された報告によると、「現在、世界人口の約 3 分の 1 である 21 億人が、過体重または肥満であり、過去 30 年間で減量に成功した国はない」ということが述べられている (Ng et al., 2014)。我が国においても過去 40 年間で肥満者の割合は増加し続けており、現在も女性の 5 人に 1 人、男性の 3 人に 1 人が肥満であるとされている (厚生労働省, 2017)。肥満は、太りやすさなどの遺伝的要因に加えて、食習慣の乱れや運動不足、喫煙などの生活習慣の悪化により、糖尿病、脂質異常症、高血圧などの生活習慣病の発症・進行につながることを報告されている (Hamano et al., 2017; Lamon-Fava et al., 1996; Matsuzawa et al., 2011; 厚生労働省, 2011; 三浦, 2012)。さらに、生活習慣病は動脈硬化を促進し、その後の脳卒中、心筋梗塞などの心血管疾患の原因であることが明らかにされていることから (Hubert et al., 1983; Manson et al., 1990)、重篤な疾患に罹患する前に、肥満を予防・改善することが我が国における喫緊の課題である。

肥満に対する減量方法として、外科的手術による減量と生活習慣改善による減量がある (日本肥満学会, 2016)。外科的手術は、BMI (body mass index)  $\geq 35 \text{ kg/m}^2$  の高度肥満者、もしくは、BMI  $\geq 32 \text{ kg/m}^2$  かつ糖尿病または糖尿病以外に二つ以上の肥満関連障害を有する者が適応となる方法である。内科的治療による減量とその維持が極めて難しい場合に、胃バインディング術や胃バイパス術などの術式を実施することにより、減量に対して高い効果があるというコンセンサスが得られている。一方、生活習慣改善による減量は主に食習慣改善と有酸素性運動が有効であるとされている。肥満症治療ガイドライン 2016 では、肥満症の治療は食事療法（食習慣改善）を基本としており、食事療法を実施することで内臓脂肪の減少が得られ、肥満に伴う健康障害の改善が期待できることが記されている。また、運動療法（主に有酸素性運動）も減量および肥満予防に有用であること、減量後の体重の維持に有用であることが記されている (日本肥満学会,

2016)。体重の減少を目的とした場合、エネルギー収支のマイナスが大きい食習慣改善が減量方法の第一選択となることが通例である。我々のグループの先行研究においても、同一期間での食習慣改善と有酸素性運動における体重減少量を比較すると、有酸素性運動よりも食習慣改善の方が大きいこと、両者を併用することで相加的に体重減少できることを報告している (Maeda et al., 2015; 膳法ら, 2014)。しかしながら、筋量に着目すると、多くの先行研究で、食習慣改善に伴い筋量が減少することが報告されている一方で、有酸素性運動では筋量が維持できる可能性が報告されている (Kim et al., 2017; Ross et al., 2004)。これらの違いを説明する要因として体タンパク質分解が関与している可能性がある。エネルギー制限を伴わない有酸素性運動では、エネルギー不足が生じにくい一方で、食習慣改善では、必要エネルギー不足により、体タンパク質を分解し、糖新生によりエネルギーを補填しているため筋量が減少すると考えられる。しかしながら、先行研究の多くは、DEXA (dual-energy X-ray absorptiometry) 法やインピーダンス法により筋量が減少していることを報告しているものが多く、体タンパク質分解が生じているか否かまでは言及されていない (Kim et al., 2017; Ross et al., 2004)。根本的な代謝異常状態を改善するためには、体タンパク質分解を抑制することが重要であると考えられる。

ヒトのタンパク質を構成しているのはアミノ酸である。食事性のタンパク質は消化吸収されアミノ酸となり、細胞や血液中に存在するアミノ酸プールへ蓄えられる。蓄えられたアミノ酸は、体タンパク質合成と体タンパク質分解を繰り返し、不要なタンパク質は排泄される。この生体機能により、ヒトのアミノ酸バランスは一定にコントロールされていることが明らかにされている (Nishioka et al., 2013)。早朝空腹時では、採血日が異なっても、同一アミノ酸であればその濃度にほとんど変化はなく、高い恒常性が維持されていることが知られている (安藤, 2007)。しかしながら、疾患に罹患することで代謝、免疫、生体調節機能の変化が生じ、消費されるアミノ酸や多く生成されるアミノ酸が存在するため、血液中のアミノ酸濃度バランスが変動する。実際に、肝疾患や



糖尿病など様々な疾患において、分岐鎖アミノ酸や芳香族アミノ酸などの血中アミノ酸濃度が変動することが報告されている (Hong et al., 1998; Plauth et al., 1990; Watanabe et al., 1984; Wang et al., 2011; Weinlich et al., 2007)。この疾患に伴う血中アミノ酸の病態特定的な変化を見ることで、現在の健康状態や病気の可能性を明らかにできることが報告されている (Noguchi et al., 2006)。このことから、血中アミノ酸濃度は、代謝異常を反映するバイオマーカーとして広く用いられている。

血中アミノ酸濃度が増加する体タンパク質分解のトリガーは、糖取り込み障害であることが明らかにされている。特に健常人と比較してインスリン抵抗性の者で、骨格筋における糖取り込み量が半減していることが示されていることから、骨格筋におけるインスリン抵抗性の進展を抑制することにより、体タンパク質分解が抑制でき、血中アミノ酸濃度の変動を抑制できる可能性がある。また、多くのアミノ酸は肝臓で代謝されるが、分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acid: BCAA) の主要代謝臓器は骨格筋である。BCAA の代謝酵素はその多くが骨格筋で発現し、BCAA は主に骨格筋で代謝されるため、骨格筋機能と関連する。この BCAA は、標準体重者と比較して肥満者において高値を示すことが報告されている (Kamaura et al., 2010; Newgard et al., 2009; Yamakado et al., 2012; Zhou et al., 2013)。また、Wang et al. (2011) は、肥満者における 12 年間の追跡調査から、ベースラインにおける血中 BCAA 濃度が高値の者 (第 4 四分位) は、それらの血中濃度が低値の者 (第 1 四分位) と比較して、2 型糖尿病の発症リスクが約 3 倍高いことを報告している (Wang et al., 2011)。さらに、この関係は空腹時血糖値や HOMA-IR (homeostasis model assessment for insulin resistance) など、その他の交絡因子に独立して得られていることから、BCAA の血中濃度の上昇は、2 型糖尿病発症の重要な予測因子であると考えられている。加えて、BCAA の一種であるバリンの中間代謝物である 3-HIB (3-hydroxyisobutyrate) は、バリン分解経路にて産生され、その一部が血中に放出される (Jang et al., 2016)。BCAA および 3-HIB は体タンパク質分解経路が亢進する

インスリン抵抗性を反映して血中で高値を示すこと、さらに、3-HIB 自体がインスリン抵抗性の進展に関与する骨格筋内への脂肪酸取り込みを促進する作用を持つことも明らかにされている (Jang et al., 2016)。これらのことから、血中 BCAA 濃度および血中 3-HIB 濃度の上昇は、体タンパク質分解を反映し、さらに、血中 3-HIB 濃度の上昇はインスリン抵抗性と関連すると考えられる。このことから、肥満者において血中アミノ酸濃度を評価し、代謝機能を網羅的に把握することは、のちの様々な疾患リスクを評価し、予防するために重要であると考えられる。

これまでに、高度肥満者 ( $BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$ ) を対象とした外科的手術（胃バイパス術など）による減量後に、血中アミノ酸濃度は変動することが報告されている (LaFerrere et al., 2011; Lips et al., 2014; Magkos et al., 2013; Tan et al., 2016)。生活習慣病リスクの高い肥満者の生活習慣病予防法の基本として推奨されているのは、食習慣改善や定期的な有酸素性運動であるが (日本肥満学会, 2016)、そのような生活習慣の改善介入が肥満者の血中アミノ酸濃度に及ぼす影響に関しては、介入期間や介入方法の相違により一定の見解が得られていない (Kamaura et al., 2010; Tochikubo et al., 2016)。さらに、食習慣改善と有酸素性運動のそれぞれが血中アミノ酸に及ぼす影響を検討した報告は少なく、どの介入方法が血中アミノ酸の変動を改善するために効果的であるか、効果に違いがあった場合、違いを生じさせる要因が何であるかは全く明らかにされていない。したがって、本研究では、我々のグループの先行研究において、高い減量効果が認められている食習慣改善や有酸素性運動が血中アミノ酸に及ぼす影響を検討することとした。

## 1-2 本研究の仮説

本研究では、「肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動による生活習慣改善により血中アミノ酸濃度は変動する。さらに、有酸素性運動単独介入で血中 BCAA および 3-HIB 濃度は低下する。」と仮説を立てた。

### **1-3 本研究の目的**

本研究では、肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動の併用介入、またはそれぞれの単独介入が血中アミノ酸に与える影響を検討することを目的とした。

### **1-4 本研究の意義**

食習慣改善および有酸素性運動の併用介入および各単独介入が肥満者における血中アミノ酸に与える影響を明らかにすることは、肥満者を対象とした科学的根拠に基づく食事療法や運動療法の確立に貢献すると考えられる。さらに、血中アミノ酸に着目して介入効果を検証することは、これまでに例がなく、生活習慣改善の効果に新たな側面を提示することが期待される。

## 第2章 文献研究

### 2-1 我が国における肥満

我が国においては、特に肥満男性の割合が増加しており（図 2-1）、深刻な社会問題となっている（厚生労働省, 2008; 2017）。肥満は様々な疾患の危険因子であることが数多く報告されており（Chan et al., 1994; Hubert et al., 1983; Manson et al., 1990）、特に動脈硬化を促進する糖尿病、脂質異常、高血圧などの病態を合併しやすいことから、致死率の高い心血管疾患の危険因子となる（Abbasi et al., 2002; Dalton et al., 2003）。これらのことから、我が国が抱える肥満男性の増加という問題は、心血管疾患などの重篤疾患の罹患者数をさらに増加させる可能性があり、健康寿命や医療費の観点から深刻な社会問題であると考えられる。したがって、肥満男性を対象とし、生活習慣の是正による健康効果を検証することは、非常に重要な課題である。

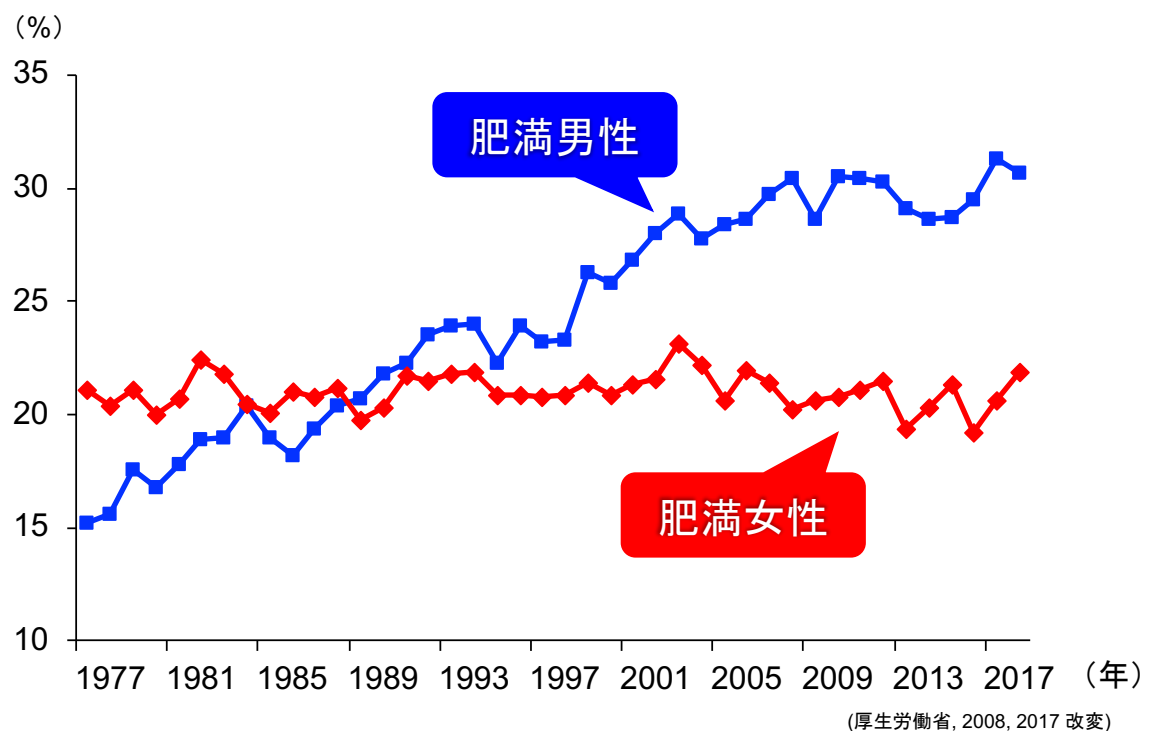


図 2-1 我が国における肥満者の推移

## 2-2 肥満と疾患の関連性

肥満症診療ガイドライン 2016 によると、肥満は脂肪組織に脂肪が過剰に蓄積した状態で、体格指数 ( $BMI = \text{体重 [kg]} / \text{身長 [m]}^2$ ) が  $25 \text{ kg/m}^2$  以上と定義されている (日本肥満学会, 2016)。また、肥満症とは肥満に起因ないし関連する健康障害 (表 2-1) を合併するか、その合併が予測される場合で、医学的に減量を必要とする病態である。内臓脂肪蓄積を表すとされる腹部肥満はそれ単独で肥満症に含められる。さらに肥満症は、腹囲が  $\geq 85 \text{ cm}$  (内臓脂肪蓄積) である者の中から、①中性脂肪  $\geq 150 \text{ mg/dL}$  かつ/または HDL コレステロール  $< 40 \text{ mg/dL}$ 、②収縮期血圧  $\geq 130 \text{ mmHg}$  かつ/または拡張期血圧  $\geq 85 \text{ mmHg}$ 、③空腹時血糖  $\geq 110 \text{ mg/dL}$  (メタボリックシンドローム診断基準検討委員会, 2005) のうち 2 項目以上を伴うことによりメタボリックシンドロームと診断される。メタボリックシンドロームはインスリン抵抗性や高血糖、脂質代謝異常、高血圧などの各リスクを惹起するだけでなく、直接的に冠動脈疾患や脳梗塞、閉塞性動脈硬化症などの動脈硬化性疾患の発症につながる。これらのことから、肥満においては、既知の危険因子のコントロールに加え、肥満そのものの管理・予防が重篤疾患予防に重要であることが示されている。

**表 2-1. 肥満に起因ないし関連し、減量を要する健康障害**

1. 肥満症の診断基準に必須な健康障害

- 1) 耐糖能障害(2 型糖尿病・耐糖能異常など)
- 2) 脂質異常症
- 3) 高血圧
- 4) 高尿酸血症・痛風
- 5) 冠動脈疾患: 心筋梗塞・狭心症
- 6) 脳梗塞: 脳血栓症・一過性脳虚血発作(TIA)
- 7) 非アルコール性脂肪性肝障害(NAFLD)
- 8) 月経異常・不妊
- 9) 閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)・肥満低換気症候群
- 10) 運動器疾患: 変形性関節症(膝・股関節)・変形性脊椎症, 手指の変形性関節症
- 11) 肥満関連腎臓病

2. 診断基準には含めないが、肥満に関連する健康障害

- 1) 悪性疾患: 大腸がん、食道がん(腺がん)、子宮体がん、  
膵臓がん、腎臓がん、乳がん、肝臓がん
- 2) 良性疾患: 胆石症、静脈血栓症・肺塞栓症、気管支喘息、  
皮膚疾患、男性不妊、胃食道逆流症、精神疾患

3. 高度肥満症の注意すべき健康障害

- 1) 心不全
- 2) 呼吸不全
- 3) 静脈血栓
- 4) 閉塞性睡眠時無呼吸症候群(OSAS)
- 5) 肥満低換気症候群
- 6) 運動器疾患

日本肥満学会, 肥満症治療ガイドライン 2016, 2016. 改変

## 2-3 肥満と糖尿病

肥満は、2 型糖尿病の発症に強く関連する（日本糖尿病学会, 2013）。肥満は、2 型糖尿病や心血管疾患など様々な疾患の独立した危険因子であることが報告されている（Hubert et al., 1983; Rashid et al., 2003; Zhang et al., 2008）。我が国における肥満者の割合を男性 15%以下、女性 18%以下に低下させることにより、2 型糖尿病有病率を男性約 6.2%、女性約 5.7%低下させることができると見込まれていることから（厚生労働省, 2014）、2 型糖尿病の発症を予防するためには肥満を改善することが重要であることは明白である。

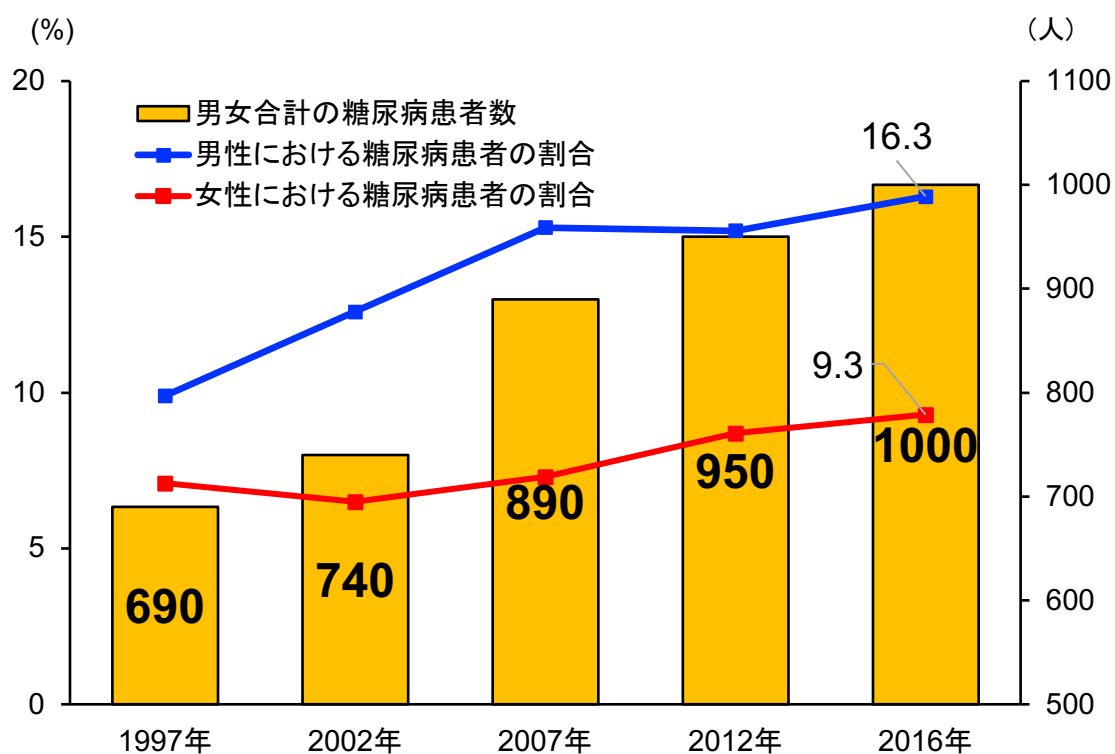


図 2-2 我が国における糖尿病人口と男女別割合の推移

※ 本研究では、国民健康・栄養調査による「糖尿病が強く疑われる者」を糖尿病患者と定義した。

世界中で糖尿病人口は増加しており、International Diabetes Federation の最新統計 (2017) によると、全世界における糖尿病有病者数は 4 億 2500 万人に上り、2045 年までに 7 億人にまで増加することが推測されている (International Diabetes Federation,

2017)。我が国においても、過去 20 年間で糖尿病患者は約 300 万人も増加している。近年の統計によると、糖尿病人口は横ばい傾向に移っているものの、今後さらなる増加が生じ得ることも予想されている（厚生労働省,2016)。さらに、男性糖尿病患者の割合は、女性糖尿病患者の割合の約 2 倍にも上ることから、我が国における男性糖尿病患者の増加は非常に大きな問題である（図 2-2)。

糖尿病は、遺伝的要因が主な発症原因である 1 型糖尿病と、遺伝要因に加えて不適切な生活習慣（主に食習慣と運動習慣）が主な発症原因である 2 型糖尿病の 2 つに分類される。我が国における糖尿病患者の 9 割以上は 2 型糖尿病である（厚生労働省, 2005)。この 2 型糖尿病の発症には、「インスリン抵抗性」が強く関連している。インスリンは血糖値を低下させる唯一のホルモンであり、インスリン抵抗性とは骨格筋などの組織においてインスリンの働きが弱くなることである。先行研究では、健常人と比較して、糖尿病患者では特に骨格筋において、インスリン抵抗性により糖取り込みの顕著な減少が生じることが報告されている（亀井と小川,2015)（図 2-3)。インスリン抵抗性になると、食事によって上昇した血糖値が低下せず、慢性的な高血糖状態になる。このように、インスリン抵抗性は耐糖能異常を引き起こし、糖尿病発症に大きく寄与する（中村ら,2009)。すなわち、肥満者の骨格筋におけるインスリン抵抗性の改善および骨格筋機能の維持は重要な介入標的になると考えられる。

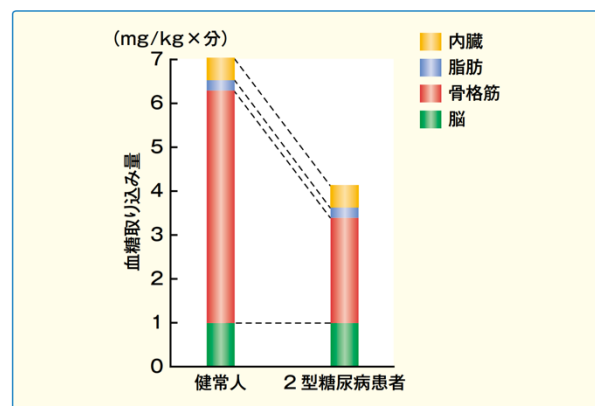


図 2-3. 臓器におけるインスリン作用の大きさの比較  
(亀井と小川, 2015)



## 2-4 肥満に対する減量方法

肥満に対する減量方法として、主に外科的治療と生活習慣改善がある。外科的治療は胃バイパシング術や胃バイパス術、スリーブ状胃切除術などが主に利用される。外科的治療では、大幅な減量が可能である一方で、我が国において、外科的手術が適応できるのは BMI が  $35 \text{ kg/m}^2$  以上の肥満者もしくは BMI が  $32 \text{ kg/m}^2$  以上かつ糖尿病または糖尿病以外に二つ以上の肥満関連障害を有する者に限定されており、全ての肥満者に適応できない。さらに、高額な医療費負担を強いられるだけでなく、侵襲的であることも問題である。

一方で、医療費負担がなく、非侵襲的な減量方法である生活習慣改善には、食事療法、運動療法、行動療法などがある。食事療法は、体重を減らし、内臓脂肪量を減少させる減量の基本療法であり、その目的は脂肪量（主に内臓脂肪）を減少させ、肥満に伴う種々の健康障害を改善することにある。また、減量のためには、摂取エネルギー量を制限することが最も有効で確立された方法であることも報告されている（日本肥満学会, 2016）。また、運動療法は、減量および肥満予防に有用であることが報告されている。運動療法を行うことにより、体重減少が 3%未満の場合でも肥満と合併する代謝指標（HDL-C、血中インスリン、血圧）の改善や糖尿病の発症予防効果が期待できることが報告されている（日本肥満学会, 2016）。運動療法による体重減少はエネルギー消費量に依存し、身体活動量の増加により減量体重の維持効果が期待できる。また、運動療法は食事療法との併用により、糖質・脂質代謝指標・血圧の改善や糖尿病の発症予防効果を相加的に向上させることも明らかにされている。また、肥満症患者は食行動異常を伴うことが多い。食行動異常の要因や治療を阻害する因子など問題点の抽出と分析に基づき、生活習慣や食行動を修正し、問題点を改善するための行動療法が必要な場合もある。このように、肥満者に対する減量では、食事療法、運動療法を中心に指導を行い、必要に応じて行動療法も組み合わせて効果的な減量を目指すとされている。

## 2-5 血中アミノ酸濃度

### 2-5-1 生体におけるアミノ酸の役割

アミノ酸は、体内で一定の量が保たれており、この概念はアミノ酸プールと呼ばれている（図 2-4）。ヒトは、生体物質を合成してエネルギーを蓄積する同化作用と、生体物質を分解してエネルギーを産生する異化作用を持っている。食事によって摂取した栄養素は、消化・吸収されてエネルギー源として利用されるか、生体物質の合成に利用される。栄養素の中でも特にタンパク質やアミノ酸は、消化・吸収されて筋タンパクの合成に利用される（同化作用）。この筋タンパクの合成と同時に、筋タンパクの分解も生じる（異化作用）。これらの反応により分解されたアミノ酸は、遊離アミノ酸として体内にプールされ、細胞内、細胞間、血中に分かれて存在する。さらに、尿や便と共にアミノ酸が排出されるというサイクルが存在する。このアミノ酸プールは、アミノ酸代謝やタンパク合成・分解を常に繰り返しているヒトの身体システムの維持に、非常に重要な役割を果たしている。体内で最大のアミノ酸プールは骨格筋であり、全アミノ酸プールの約 50%を占める。骨格筋 1 kg あたり、3-4 g の遊離アミノ酸をプールしていると考えられている。

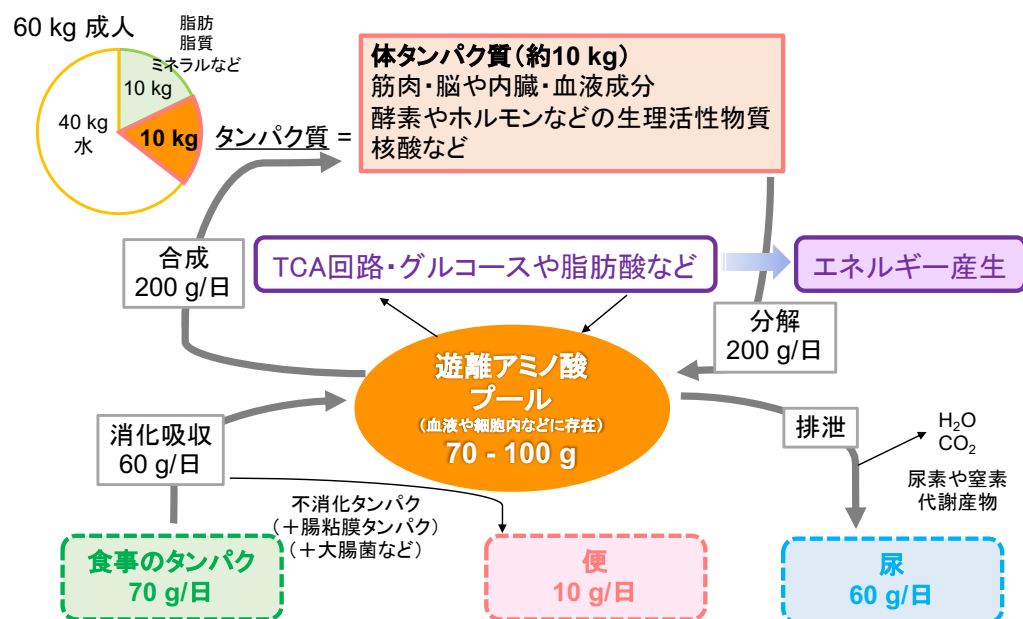


図 2-4 アミノ酸代謝の動的平衡概念図

アミノ酸が持つ役割は大きく以下の5つが挙げられる。

### 1) 発達におけるアミノ酸の役割

身体を構成している骨格筋、脳、肝臓、心臓、腎臓、消化管などの臓器は、20種類のアミノ酸から成るタンパク質からできている。ヒトは、身体を構成する有機物質を分解する異化作用と、身体を構成する有機物質を合成する同化作用を持っており、これらの作用は生きていく上で非常に重要である。特に成長期の子供は、異化の過程で排泄する量よりも多くのタンパク質を食品から摂取しなければならない。新生児におけるタンパク質の体重あたり必要摂取量は、成人に比べて約5倍多く、幼児と比較しても約2倍多い。成人においては、体重1 kgあたり  $\geq 1.1$  g /日のタンパク質摂取が望まれる。

### 2) 代謝におけるアミノ酸の役割

食物から吸収されたアミノ酸は、門脈を通り、肝臓に入る。運動に使われるエネルギー源は主に糖質と脂質であるが、エネルギー代謝が亢進した状態では、アミノ酸がエネルギー源として利用される (Poortmans et al., 1988)。アミノ酸の中でも、特にBCAAのバリン、ロイシン、イソロイシンは筋中で直接代謝されるため、エネルギー源として利用されやすい性質を持つ。さらに、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニンも筋でのエネルギー産生に重要である。特に長時間の運動でグリコーゲンが枯渇した場合、エネルギー供給の点で、筋でのグルコース-アラニン回路の働きが非常に重要である。

### 3) 中枢機能におけるアミノ酸の役割

グリシン、アスパラギン酸、グルタミン酸などの非必須アミノ酸は、それ自体が中枢神経系の神経伝達物質として利用される。一方で、必須アミノ酸に関しては、フ

エンルアラニンが酵素の働きによってチロシンとなり、チロシンから脳内神経伝達物質であるドーパやドーパミンが生成され、さらに交感神経を刺激するアドレナリンやノルアドレナリンが生成される。トリプトファンからは、中枢神経系で働くモノアミン神経伝達物質のセロトニンが生成される。その他にも、中枢機能に関連する多くの物質がアミノ酸から合成される。これらの神経伝達物質は、摂食行動や運動機能、精神状態にも影響する。

#### 4) 生体防御におけるアミノ酸の役割

必須アミノ酸のヒスチジンからは、ヒスチジン脱水酵素の働きによりヒスタミンが生成される。ヒスタミンは、摂食行動の抑制や記憶学習の修飾など、生理機能を調節することが知られている。また、ヒスチジンから生成されるヒスタミンは、組織における脂肪細胞や好塩基球に含まれ、免疫グロブリン E 抗体を介する免疫刺激や外傷などの非免疫刺激に応答して遊離され、アレルギー反応や平滑筋収縮を引き起こす。さらにヒスチジンは、抗酸化作用を持つカルノシンやアンセリンの前駆体にもなる。

#### 5) 運動機能におけるアミノ酸の役割

運動前に特定のアミノ酸の血中濃度を高値に保つことによって、運動パフォーマンスは向上することが数多く報告されている (Crowe et al., 2006; Mero, 1999; Ra et al., 2013a; Ra et al., 2013b; Ra et al., 2015; Ra et al., 2018; Shimomura et al., 2004; Watson et al., 2004)。運動パフォーマンスに関連するアミノ酸として、よく知られているのは BCAA である。BCAA は主に骨格筋で代謝され、運動のエネルギー源となる。実際に、運動前の BCAA 摂取により、アスリートの運動パフォーマンスは向上することが示されている (Shimomura et al., 2004)。さらに、BCAA 代謝における最初の酵素である BCAA アミノ基転移酵素を欠損させたマウスでは、運動能力が著しく低下することも報告されてい

る (She et al., 2010)。Shimomura et al. (2009) は、運動習慣のない者が 20 分間程度の軽運動を実施した後に、血中の BCAA 濃度は低下することを報告している (Shimomura et al., 2009)。運動中の BCAA 代謝が円滑に行われることは、運動のパフォーマンス発揮に重要な役割を果たしているといえる (下村ら, 2014)。Ra et al. (2013a; 2013b; 2015) は、若年男性においてタウリンを摂取すると、運動中の血糖値低下が抑制され、疲労困憊までの時間が長くなること、さらに運動後にタウリンと BCAA を両方摂取することにより、遅発性筋痛が生じにくくなることを報告している (Ra et al., 2013; Ra et al., 2015)。また、9 種類の必須アミノ酸を組み合わせたアミノ酸サプリメント (BCAA のひとつであるロイシンを高濃度に配合) を運動前に摂取すると、運動後における筋痛の抑制、筋損傷の抑制、炎症反応の抑制といった効果が得られることが報告されている (Kato et al., 2015)。さらに、アラニン・プロリン高配合糖質混合物を摂取することにより、持久性能が向上することも報告されている (Nogusa et al., 2014)。

このようにアミノ酸は、体内で様々な役割を果たしており、その役割はどれも非常に重要であるといえる。図 2-5 に示す通り、アミノ酸は様々な生理的因子の影響を受け、異化と同化を繰り返している。

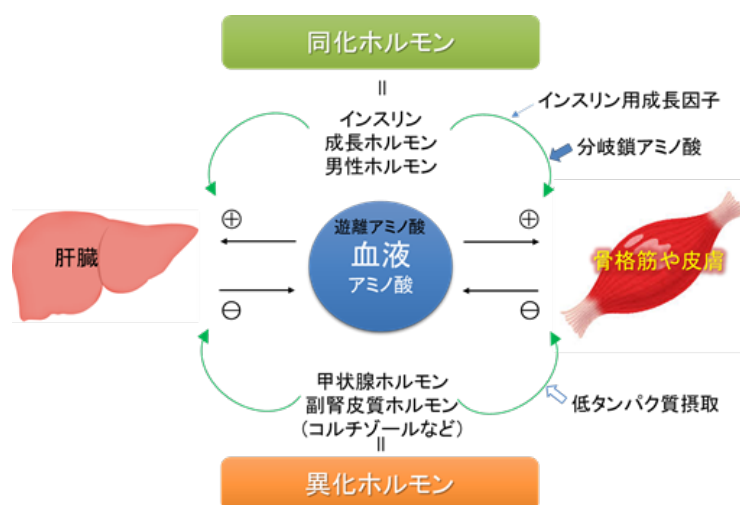


図 2-5 アミノ酸代謝に影響を与える要因

朽久保ら. アミノ酸と生活習慣病 図 I-44 より改変

### 2-5-2 アミノ酸の代謝

アミノ酸は、ピルビン酸、2-オキソグルタル酸、スクシニル CoA、フマル酸、オキサロ酢酸、アセチル CoA、アセト酢酸の7物質のうちのどれかに分解され、これらのうちどれになるかで分類される。糖新生の中間体であるピルビン酸、2-オキソグルタル酸、スクシニル CoA、フマル酸、オキサロ酢酸を生じるアミノ酸は糖原性アミノ酸である。スレオニン、グリシン、セリン、システイン、アラニン、バリン、メチオニン、アスパラギン、アスパラギン酸、アルギニン、ヒスチジン、プロリン、グルタミン、グルタミン酸が該当する。ロイシンとリジンは炭素骨格の分解でアセチル CoA かアセト酢酸を生じるのでケト原性アミノ酸である（図 2-6）。動物はアセチル CoA 及びアセト酢酸から糖を合成することはできない。トリプトファン、イソロイシン、フェニルアラニン、チロシンは糖とケトン体の両方に変換することができるため糖原性アミノ酸、ケト原性アミノ酸の両方を兼ねるアミノ酸である。

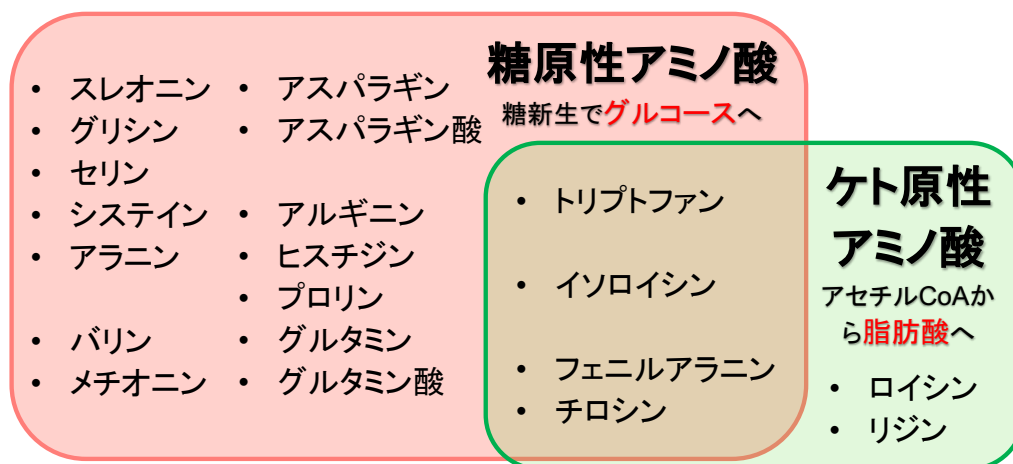


図 2-6 アミノ酸の分類

消化過程で小腸から門脈を通して吸収されたアミノ酸は多くの臓器に分配される。しかしながら、分布は均等ではなく組織に固有の代謝の様子をみせる。主に代謝される部位は、筋肉、小腸、肝臓、腎臓、脳などである。以下に代謝部位と各アミノ酸の関連性を示す。

**筋肉：**BCAA のバリン、ロイシン、イソロイシンは門脈から肝臓を素通りして大半は筋肉で代謝されることから、BCAA の主要代謝臓器は筋肉である。筋肉と肝臓の間にはアミノ酸と糖のやり取りがある（グルコース-アラニン回路）。

**小腸：**血中のグルタミン代謝を主として行う。グルタミンはアラニンと  $\text{NH}_3$  に分解される。グルタチオン合成能も高い。

**肝臓：**アミノ酸代謝で生じる  $\text{NH}_3$  の処理は、ほとんどこの臓器で行われる（尿素回路）。また、分岐鎖アミノ酸以外のほとんどのアミノ酸の代謝を行う。糖新生、脂質代謝との関連も密接である。脱炭酸による生理活性物質合成、胆汁酸合成、毒物代謝も肝臓の役割である。

**腎臓：**アミノ酸の再吸収や、血中からのグルタミンをグルタミン酸と  $\text{NH}_3$  に分解する。セリンを合成し、血中に送り出す。また、シトルリン以降の尿素回路の経路をもつので、血中のシトルリンから尿素を合成する。

**脳：**神経活動に関連したアミノ酸代謝を行う。例えば、チロシンの脱炭酸によるドーパミン合成や、トリプトファンからのセロトニン合成など。脳で生じた  $\text{NH}_3$  は大部分がグルタミン、一部はアラニンとして血中に放出される。

### 2-5-3 血中アミノ酸濃度と疾患

ヒトの体は、血中アミノ酸濃度が正常値より低下すると、細胞に貯蔵しているアミノ酸を血中に放出し、不足しているアミノ酸を補充する働きをもつ。肝臓などの組織の細胞タンパク質は、血中のアミノ酸から速やかに合成される。これらのタンパク質の多くは、血中のアミノ酸濃度が低下すると、速やかにアミノ酸へと分解されて血中に戻る。このように、ヒトの体は、血中アミノ酸濃度の相互交換による平衡状態の維持機能を有している。実際に、前日に暴飲暴食をしない限り、血中のアミノ酸濃度は一定に保たれることが先行研究にて報告されている (Nishioka et al., 2013)。

近年の研究では、血中アミノ酸濃度によって身体の様々な特性を把握できることが明らかにされてきている。特定の疾患に罹患することで身体の代謝バランスが崩れ、一定に保たれているはずの血中アミノ酸濃度のバランスには、病態特異的な変化が生じる。この病態特異的な生体応答に基づき、健康状態や様々な疾患の病態・リスクの把握に血中アミノ酸濃度が利用されている (Noguchi et al., 2006)。

先行研究にて、肝疾患の患者では、病態の進行度に伴いバリン、ロイシン、イソロイシンの血中濃度が低下し、チロシン、フェニルアラニンの血中濃度は上昇すること (Qingwei et al., 2006)、膵臓がんの患者では、アラニン、トリプトファンの血中濃度が低値を示し、セリンの血中濃度は高値を示すことが明らかにされている (Fukutake et al., 2015)。さらに、血中アミノ酸濃度は、内臓脂肪蓄積型肥満のスクリーニング (Yamakado et al., 2012) や、様々ながんのスクリーニング (Miyagi et al., 2011) にも応用されている。さらに、スポーツや美容、栄養管理などの分野でも、血中アミノ酸濃度の有用性は認められており、身体の状態を把握するのみではなく、身体のコンドショニングに関する研究も行われている。



#### 2-5-4 血中アミノ酸濃度と肥満

多くの先行研究にて、BCAA のバリン、ロイシン、イソロイシン、および AAA (aromatic amino acid) のチロシン、フェニルアラニンの血中濃度は、標準体重者に比べて肥満者で高値を示すことが報告されている (Newgard et al., 2009; Xie et al., 2014; Kim et al., 2010; Zhou et al., 2013)。さらに、Badoud et al. (2014) は、健康な標準体重者 (lean healthy, LH)、代謝的に健康な肥満者 (metabolically healthy obese, MHO)、代謝的に不健康な肥満者 (metabolically unhealthy obese, MUO) における血中アミノ酸濃度を横断的に比較検討した結果を報告している (Badoud et al., 2014)。この先行研究では、BCAA、AAA、グルタミン酸の血中濃度は、LH に比べて MHO および MUO で有意に高く、さらにシステイン、メチオニン、リジン、プロリン、ヒドロキシプロリン、カルニチンの血中濃度は、LH に比べて MHO で有意に高いことが示されている。このことから、BCAA および AAA の血中濃度は、代謝的に健康であるか不健康であるかに関係なく、標準体重者に比べて肥満者で高値を示す可能性が考えられる。また、Kamaura et al. (2010) は、メタボリックシンドローム該当者 ( $BMI = 27.5 \pm 4.4 \text{ kg/m}^2$ ) は、メタボリックシンドローム非該当者 ( $BMI = 23.6 \pm 1.4 \text{ kg/m}^2$ ) と比較して、ロイシン、チロシン、フェニルアラニンなど 8 種のアミノ酸の血中濃度が高値を示すことを報告している (Kamaura et al., 2010)。

#### 2-5-5 血中アミノ酸濃度と外科的治療による減量

我が国における肥満症治療ガイドラインは、BMI  $\geq 35$  kg/m<sup>2</sup>の高度肥満者、および肥満関連疾患を2つ以上もつ BMI  $\geq 32$  kg/m<sup>2</sup>の肥満者に対しては、胃バイパス術や胃バインディング術など外科的治療の適用を認めている（日本肥満学会, 2016）。外科的手術を行うと、体重は大幅に減少する。Chang et al. (2014) によるメタアナリシスでは、手術5年後のBMIに12–17 kg/m<sup>2</sup>程度の低下が認められている（Chang et al., 2014）。

このような外科的手術による減量前後の血中アミノ酸濃度を比較検討した先行研究はいくつか存在する。Magkos et al. (2013) は、胃バイパス術後に20%の減量を達成した際、血中BCAA濃度が有意に低下することを報告している（Magkos et al., 2013）。さらに、スリーブ状胃切除術と胃バイパス術の効果を比較した先行研究では、どちらの術式においても、手術の1年後には20 kg以上の減量が認められ、バリン、ロイシン、イソロイシン、チロシンを含む多くのアミノ酸の血中濃度が有意に低下し、2種類の術式間で効果に差はないことが報告されている（Tan et al., 2016）。そのほかにも、胃バイパス術後に血中アミノ酸濃度が変化するという先行研究は複数あり（LaFerrere et al., 2011; Lips et al., 2014）、外科的手術は、肥満者において血中アミノ酸濃度の変動を減弱させるために有効な方法の一つであると考えられる。

#### 2-5-6 血中アミノ酸濃度と食習慣

肥満者における生活習慣の改善方法で第一に推奨されているのは、減量を目的とした食習慣の改善である（日本肥満学会, 2016）。エネルギーの過剰摂取は肥満に繋が、様々な疾患の重大な罹患リスクとなり得る。肥満は2型糖尿病の危険因子であるため、肥満を放置しておくとも2型糖尿病に発展する可能性がある。したがって、2型糖尿病の予防に関しても、肥満の改善と同様に食習慣改善が有効であるといえる。

一般的に、アミノ酸プールはある一定の濃度に保たれているという概念があり、食習慣と血中アミノ酸濃度の関連を検討した研究は少ない。Pedersen et al. (2006) は、標準体重者における食習慣や食文化は、血中アミノ酸濃度の決定因子ではないことを報告している (Pedersen et al., 2006)。一方で、Zheng et al. (2016) は、平均 BMI が  $30 \text{ kg/m}^2$  を超えている肥満者における2年間の食習慣改善による減量後に、メチルヒスチジン、バリン、ロイシン、イソロイシン、チロシン、フェニルアラニン、リジンの血中濃度が有意に低下したことを示している (Zhang et al., 2016)。また、 $\text{BMI} \geq 35 \text{ kg/m}^2$  の肥満者を対象とした胃バイパス術による減量後に、BCAA や AAA などの血中濃度は低下することが報告されているが (Laferrere et al., 2011; Lips et al., 2014; Magkos et al., 2013; Tan et al., 2016)、摂取エネルギー制限によって胃バイパス術と同等の減量を達成した場合、胃バイパス術と同等の血中アミノ酸濃度の変化は認められなかったという先行研究も存在する (Laferrere et al., 2011)。このように、肥満者における減量を目的とした食習慣改善により、血中アミノ酸濃度が変化するか否かについては一定の見解が得られていない。

### 2-5-7 血中アミノ酸濃度と運動習慣

Pedersen et al. (2006) は、運動非習慣者に比べて運動習慣者の血中 BCAA 濃度が低いことを報告しており、この機序として、血中の BCAA が運動のエネルギー源として消費されるためであると考察している。標準体重者に比べて肥満者の血中 BCAA 濃度は高いことが報告されているが (Kim et al., 2010; Newgard et al., 2009; Xie et al., 2014; Zhou et al., 2013)、定期的な運動により、肥満者の血中 BCAA 濃度は低下することが予想される。しかし、定期的な運動が肥満者の血中アミノ酸濃度に及ぼす影響を検討した研究は少ない。Glynn et al. (2015) は、肥満者を対象に有酸素性運動とレジスタンス運動を組み合わせた運動介入を 6 ヶ月間実施し、介入前後の血中 BCAA 濃度の変化を報告している (Glynn et al., 2015)。この先行研究では、6 ヶ月間の介入により、インスリン抵抗性は改善しているが、血中アミノ酸濃度には有意な変化が認められていない。この結果を説明し得る理由として、Glynn et al. (2015) は、介入後に有酸素性運動能力が向上しなかったことを挙げている。このことは、研究デザインに限界があったことを示唆する。また、この先行研究では 6 ヶ月間の有酸素性運動とレジスタンス運動の併用介入を採用していたが、これまでに、定期的な有酸素性運動の単独介入が血中アミノ酸濃度に与える影響は報告されていない。

## 2-6 分岐鎖アミノ酸と代謝

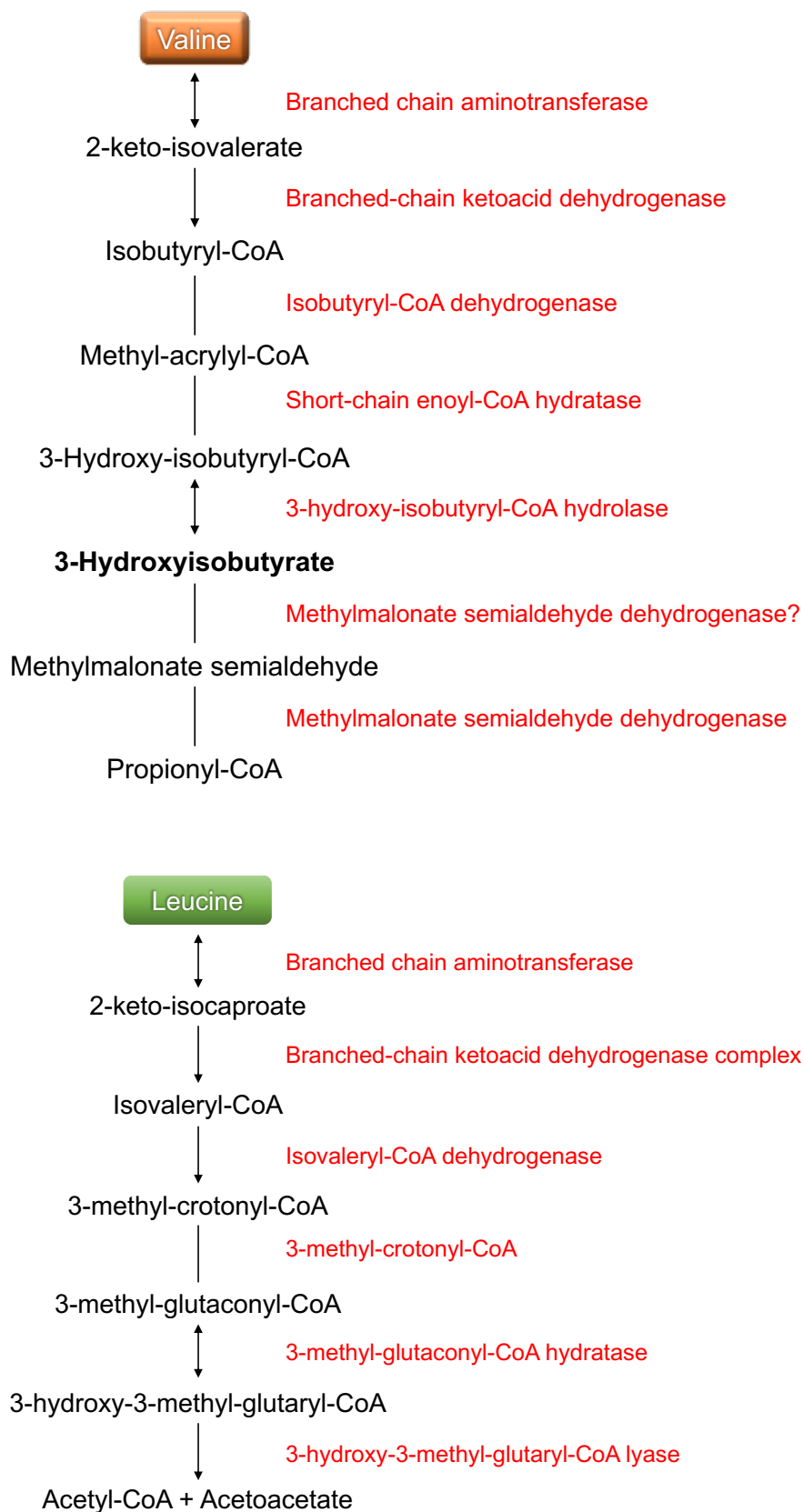
### 2-6-1 骨格筋におけるタンパク質代謝

骨格筋は身体において最も大きな組織であり、全タンパク質量の 50%を占める。見た目には大きな変化を示さない骨格筋量だが、細胞レベルにおいて骨格筋のタンパク質は 24 時間常にその合成と分解を続けている。健康な一般成人において、筋量は異化作用（空腹時、疾患、ストレスなど）と同化作用（栄養摂取、筋収縮など）の微細なバランスによって一定に保たれている。タンパク質合成と分解の差を出納バランスと呼ぶが、筋量の増加は出納バランスがプラスの状態、つまりタンパク質合成速度がタンパク質分解速度を上回った場合のみ可能となり、逆にタンパク質分解速度が合成速度を上回ると筋量が減少する。空腹時においてタンパク質の出納バランスはマイナスであり、通常食事摂取によってのみ出納バランスがプラスに移行する。その結果、空腹時に失われた筋タンパク質が補われることで、24 時間の出納バランスがプラスマイナスゼロとなり、筋量が維持される。この筋タンパク質の代謝速度は比較的緩やかだが、全身のタンパク質代謝を考慮すると、骨格筋の代謝量は全体の 3 分の 1 を占める大きな割合となる。すなわち、アミノ酸代謝において、骨格筋は非常に重要な代謝器官である。

## 2-6-2 分岐鎖アミノ酸の代謝

BCAA は、タンパク合成促進作用と筋タンパク分解抑制効果があり、特にロイシンが中心的な役割を果たしている。BCAA 以外の多くのアミノ酸は主に肝臓で代謝されるが、BCAA は主に筋肉で代謝される (下村ら, 2012)。BCAA のアミノ基はグルコース-アラニン経路で糖原性アミノ酸のアラニンとなり、糖新生に利用されエネルギー源となるため、侵襲期には重要な役割を果たす。また、肝障害時には、芳香族アミノ酸であるフェニルアラニンとチロシンが増加して、偽性神経伝達物質の前駆体となり、BCAA が低下するが、BCAA 投与は血液-脳関門において芳香族アミノ酸と競合して、肝性脳症の発生を防止する。

BCAA は、酵素である BCAA アミノトランスフェラーゼ (branched-chain aminotransferase: BCAT) が他の多くのアミノ酸が変換される肝臓内には存在せず、筋内でのみ代謝される。BCAA 代謝の律速酵素は筋内にある分岐鎖ケト・デヒドロゲナーゼで、運動や絶食によって効率良く活性化される。骨格筋における BCAA の代謝は図 2-7 に示す経路を通る。BCAA 代謝系において、共通した酵素 (BCAT および BCKDC (branched-chain  $\alpha$ -ketoacid dehydrogenase complex)) による最初の 2 つの反応が特徴的であり、特に BCKDC による触媒は不可逆反応であることから、BCAA 代謝の律速酵素であると言える。しかしながら、この BCKDC はさまざまな疾患の影響を受けやすく、BCAA 代謝障害を引き起こす原因にもなる。実際に肥満者においても代謝酵素の発現が低下していることが報告されている (Lynch et al., 2014)。



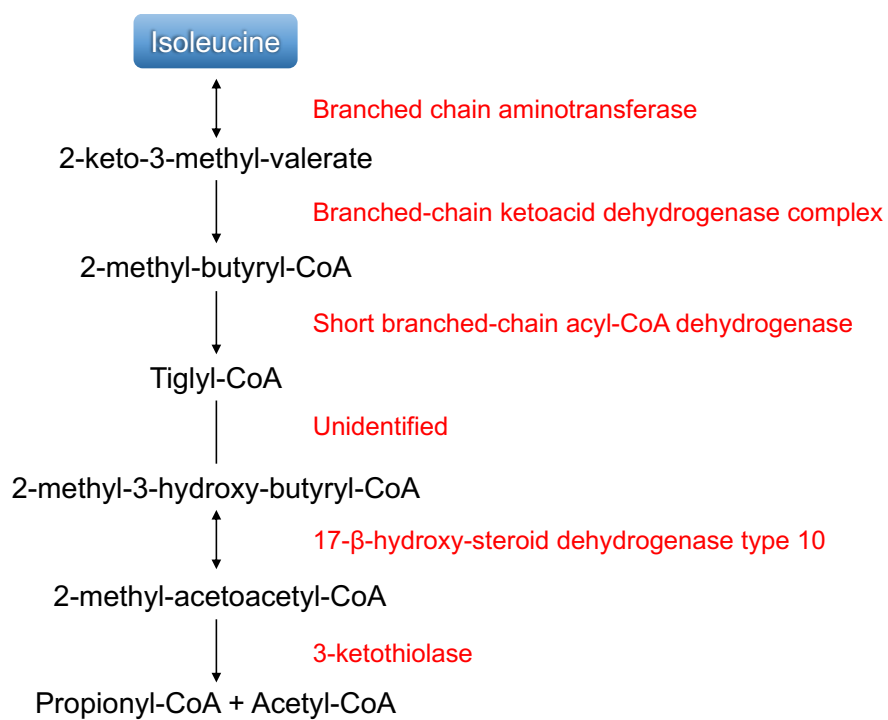


図 2-10. BCAA の分解系代謝経路



### 2-6-3 3-HIB の働き

#### 3-HIB

は、分岐鎖アミノ酸の一種であるバリンの分解経路の中間代謝物であり、バリンの分解（異化）によってその一部が血中に放出される。バリンの異化亢進によって血中に放出されることから、血中 3-HIB 濃度の上昇は体タンパク質が分解された結果生じると考えられる。近年、Jang et al. (2016) らにより、3-HIB は内皮を通過する脂肪酸輸送の新しいパラクリン性調節因子であることが明らかにされ、3-HIB は糖尿病の発症に関連することが報告された。マウスによる研究では、3-HIB は筋細胞から分泌されて、内皮の脂肪酸輸送を活性化し、*in vivo* では筋の脂肪酸取り込みを刺激して、筋肉での脂質蓄積を促進することが明らかになった (Jang et al., 2016)。筋への脂肪蓄積（筋内脂肪蓄積）は、インスリン抵抗性の原因として報告されているため (Liu et al., 2007)、3-HIB は糖尿病の発症に関与するとされている。実際に、糖尿病モデルマウスの db/db マウスや糖尿病患者では、糖尿病非罹患の対照に比べて、筋肉中 3-HIB レベルが上昇していることも明らかにされている (Jang et al., 2016)。これらのことから、バリンの中間代謝産物である 3-HIB が内皮を通過する脂肪酸流量を調節することで、脂肪酸流量の調節と BCAA 異化を結び付けるという機構を明らかにしており、BCAA 異化産物流量の増加が糖尿病を引き起こしうる仕組みの説明となる。

また、これまでに糖代謝異常のない者と比較して 2 型糖尿病患者において血中 3-HIB 濃度が高値を示すこと (Andersson-Hall et al., 2018)、肥満者は標準体重者と比較して血中 3-HIB 濃度が有意に高値を示すことが報告されている (Mardinoglu et al., 2018)。このことから、血中 3-HIB 濃度を低下させることが、肥満者における糖尿病予防の新たな治療標的になる可能性がある。

#### 2-6-4 3-HIB と減量

これまでに生活習慣改善による減量が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響を検討した研究は 1 つしか報告されていない。Haufe et al. (2017) は、対象者を介入開始時の摂取エネルギーの 30%を減らしながら炭水化物を 90 g/day に制限し、脂質の割合を 30%程度にする炭水化物制限群と介入開始時の摂取エネルギーの 30%を減らしながら脂質のトータルエネルギーの 20%以下に脂質を制限する脂質制限群の 2 群にランダムに割り付け、6 ヶ月間の食習慣改善単独介入を実施し、その介入前後での骨格筋細胞内脂質、インスリン感受性、血中 3-HIB 濃度の変化を検討している。介入後、骨格筋細胞内脂質は炭水化物制限群では有意に変化しなかったが、脂質制限群では有意に低下した。また、両群でインスリン感受性は改善したが、いずれの介入群においても血中 3-HIB 濃度に有意な変化は認められなかった。さらに、HOMA-IR の変化量、インスリン感受性の変化量と血中 3-HIB 濃度の変化量の間にそれぞれ有意な相関関係が認められた。これらの結果から食事制限による減量で変化する血中 3-HIB 濃度の変化はインスリン感受性の改善に関連することを示唆している (Haufe et al., 2017)。本文中には詳しい考察はされていなかったが、食習慣改善ではエネルギー制限を行うため、不足したエネルギーを補填するためにタンパク分解が生じると考えられる。この結果、体重が減少し、インスリン抵抗性が改善したものの、血中 3-HIB 濃度に有意な変化が認められなかった可能性が考えられる。

しかしながら、食習慣改善介入による減量が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響に関する知見は少なく、運動単独の介入による減量が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響も全く不明である。

### 第3章 本研究の構成

肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動の併用介入、またはそれぞれの単独介入が血中アミノ酸に与える影響を検討するために、以下の研究課題を設定した。

#### **研究課題 1: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響**

これまでに、標準体重者と比較して肥満者において血中アミノ酸濃度が変動することが報告されている (Newgard et al., 2009)。また、減量を目的とした胃バイパス術などの外科的手術により、血中アミノ酸濃度は変化することが明らかにされている (LaFerrere et al., 2011; Tan et al., 2016)。しかしながら、我が国において外科的手術の適応となるのは BMI 35kg/m<sup>2</sup> 以上のものと限定されており、万人には適応できない (日本肥満学会, 2016)。さらに、外科的手術は侵襲的かつ高額な医療費を負担しなければならないことから、非侵襲的かつ安価に実施可能な減量プログラムが必要である。

一方で、非侵襲的かつ安価に実施可能な減量プログラムである食習慣改善と有酸素性運動を併用した生活習慣改善により、血中アミノ酸濃度の変動を検討した先行研究がいくつか報告されているが、アドバイスによる弱い介入方法が多く、結果が一致していない (Kamaura et al., 2010; Tochikubo et al., 2016)。我々の研究グループでは、これまでに 4 群点数法を用いた食習慣改善および週に 3 回スタッフの監視下において運動を実施する有酸素性運動を併用した生活習慣改善プログラムにより、高い減量効果が得られることを報告している (Kumagai et al., 2016)。この介入方法により、血中アミノ酸濃度濃度が増加するかを明らかにすることとした。また、アミノ酸代謝に影響を与える可能性がある月経周期の観点、さらに我が国における肥満割合の観点から、男性を研究対

象とした。

研究課題 1 では、「肥満男性における食習慣改善と有酸素性運動の併用介入が、血中アミノ酸濃度に及ぼす影響を検討すること」を目的とした。

**研究課題 2: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入が  
血中 BCAA 濃度に及ぼす影響**

肥満と強く関連する糖尿病の病態において、骨格筋は特に重要な代謝器官である (亀井と小川, 2015)。また、多くのアミノ酸の主要代謝臓器が肝臓であるのに対し、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) の主要代謝臓器は骨格筋である (下村ら, 2012)。インスリン抵抗性により血中 BCAA 濃度が上昇することが明らかにされているが、その原因のひとつに体タンパク質分解が関連していることが報告されている (She et al., 2013)。さらに、血中 BCAA 濃度の上昇は糖尿病発症の予測因子であることが明らかにされている (Wang et al., 2011) ことから、肥満者において血中 BCAA 濃度を低下させることが特に重要である。研究課題 1 では、食習慣改善と有酸素性運動による併用介入の効果を検討したが、食事と運動のどちらの介入がより効果的であるかは不明である。

したがって、研究課題 2 では、「肥満男性における食習慣改善と有酸素性運動の単独介入が血中 BCAA 濃度に及ぼす影響を検討すること」を目的とした。

**研究課題 3: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入が  
血中 3-HIB 濃度に与える影響**

バリンの中間代謝物である 3-HIB は、バリン分解によりその一部が血中に放出され、筋に脂肪酸を取り込む (筋内脂肪蓄積) 作用を有するため、インスリン抵抗

性を促進し代謝の悪循環を引き起こす因子として、近年注目されている (Jang et al., 2016)。先行研究にて、肥満者は血中 3-HIB 濃度が上昇していることが報告されている (Andersson-Hall et al., 2018; Mardinoglu et al., 2018) ことから、肥満者において血中 3-HIB 濃度を低下させることが重要である。研究課題 2 より、食習慣改善と有酸素性運動が血中 BCAA 濃度に与える影響に違いが生じた原因として筋が影響している可能性が考えられる。食習慣改善による減量は筋量が有意に減少するが、有酸素性運動による減量は筋量の変化が少ない (Kim et al., 2017; Ross et al., 2004)。カロリー制限によるエネルギー不足を補うため、体タンパク質が分解されることによって血中 BCAA 濃度が変化しなかった可能性がある。この介入方法の違いによる体タンパク質分解の差を血中 3-HIB 濃度の評価により検出できると仮説を立てた。

したがって、研究課題 3 では、「肥満男性における食習慣改善と有酸素性運動の単独介入が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響を検討すること」を目的とした。

## 第 4 章 研究課題 1: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響

### 4-1 緒言

先行研究における生活習慣（食習慣および運動習慣）の改善による減量が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響については見解が一致していない (Kamaura et al., 2010; Tochikubo et al., 2016)。このような見解の不一致を説明し得る要因の一部として、生活習慣改善介入の指導頻度、および介入後の体重低下率が挙げられる。研究課題 1 では、先行研究 (膳法ら, 2014) にて肥満者の著明な減量効果が認められている介入方法を採用し、肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響を検討することを目的とした。

### 4-2 方法

#### 4-2-1 対象者

本研究課題では、筑波大学にて行われた減量教室の参加者を対象とした。参加者には 12 週間の食習慣改善と有酸素性運動を支援した。本研究では、肥満の定義を  $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$  とし (日本肥満学会肥満症診断基準検討委員会, 2011)、教室参加者の中から、介入前の時点で肥満に該当しなかった者、糖尿病に罹患していた者、血糖降下薬を服用していた者、介入期間中に研究参加を中途辞退した者、介入前または介入後の測定データに不備があった者を除外し、最終的に肥満男性 32 名を解析対象とした。なお、本研究課題は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得ており、すべての参加者に対して研究の目的と内容について説明し、研究に参加する同意を得て実施した。

#### 4-2-2 介入方法

本研究課題では、12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入を実施した。

##### 食習慣改善

対象者は、筑波大学にて行われた 12 週間の食事教室に参加した。教室では、1 回 90 分間、週 1 回の集団指導を行った。指導内容としては、4 群点数法 (香川, 2002) を用いて、1 食あたり 560 kcal、1 日あたり 1680 kcal 程度を目標に、バランスよく摂取エネルギー量を制限するよう指導した。4 群点数法を用いた食事は、毎食、第 1 群 (牛乳・乳製品、卵) から 1 点 (80 kcal)、第 2 群 (魚介類、肉類、豆・豆製品) から 2 点 (160 kcal)、第 3 群 (野菜、芋類、きのこ・海藻、果物) から 1 点 (80 kcal)、第 4 群 (穀物、砂糖、油脂、その他の嗜好品) から 3 点 (240 kcal) の範囲内で、3 食の合計点数が 21 点 (1680 kcal) 以内になるよう、対象者自身が食品を選択して摂取するように指導した。介入期間中は、毎食の食事内容を食事日誌に記録させた。食事日誌を週に 1 度の集団指導の際に指導者が確認し、必要に応じて個別指導を行った。本研究における食事指導は、肥満男性を対象とした先行研究と同様の方法を採用した (Miyaki et al., 2009b)。

##### 定期的な有酸素性運動

対象者は、筑波大学にて行われた 12 週間の運動教室に参加した。教室は 1 回 90 分間、週に 3 回の頻度で実施した。運動内容は、教室の初めにウォーミングアップとしてストレッチングを 10-15 分間、次に主運動としてウォーキングやジョギングなどの有酸素性運動を 40-60 分間、最後に自重負荷運動およびストレッチングを 20-30 分間行った。教室における運動強度は、Borg スケールによる自覚的運動強度 (ratings of perceived exertion, RPE) の 12-14 あたり (中等強度) を意識して保つように指導した。

また、参加日数の少ない者に関しては、積極的に自宅での運動を行うよう指導した。本研究における運動指導は、肥満男性を対象とした先行研究と同様の方法を採用した (Miyaki et al., 2009a)。

#### 4-2-3 測定項目

対象者には、形態指標、体組成、血圧の測定および採血の 24 時間前から激しい運動を避けるように、12 時間前から水以外の飲食を控えるように指示した。これらの測定および採血は、室温を 24–26°C に調節した静かな部屋で実施した。運動負荷試験は、採血後に対象者が軽食を摂取してから約 30 分後に実施した。

##### 形態指標・体組成

身長は 0.1 cm 単位 (TG-200; ヤガミ社製)、体重は 0.1 kg 単位 (TBF-551、タニタ社製) で計測し、体重/身長<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>) として BMI を算出した。ウエスト周囲径は 0.1 cm 単位で、伸縮性のないメジャーを用いて臍位で測定した。体脂肪率は、二重エネルギー X 線吸収法 (QDR 4500A; Hologic 社製) により、全身スキャンモードで測定した。

##### 血液生化学データ

熟練した看護師が、肘正中皮静脈から採血を行った。採血後、血液を 4°C、3000 rpm で 15 分間遠心分離した。血漿サンプルを用いて、空腹時血糖を測定した。血清サンプルを用いて、空腹時インスリン、high-density lipoprotein (HDL) コレステロール、low-density lipoprotein (LDL) コレステロール、中性脂肪を測定した。得られた血液データから、インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR を以下の式で求めた。

$$HOMA-IR = [\text{空腹時血糖 (mg/dL)}] \times [\text{空腹時血中インスリン (\mu U/mL)}] / 405$$



### 血中アミノ酸濃度

得られた血漿サンプルと 3%スルホサリチル酸水溶液を等量混和し、4℃の冷蔵庫で 1 時間放置した。その後、混和液を 4℃、3000 rpm で 15 分間遠心分離してタンパク質を分離させ、上清をろ過精度 0.45 µm のフィルターでろ過し、得られたサンプルを測定まで-80℃で凍結保存した。測定は、筑波大学研究基盤センター分析部門に委託し、イオン化交換クロマトグラフィーと可視吸光検出器を組み合わせた、全自動アミノ酸分析機（JEOL JLC-500/V2; 日本電子株式会社製）を用いて行った。

### 摂取エネルギー量

摂取エネルギー量は介入前と介入 10 週目において、3 日間（平日 2 日と休日 1 日）の自己申告制の食事記録（秤量法）をもとに熟練した管理栄養士が算出した。秤量が困難な製品や調味料に関しては、製造社名や分量を記入するよう指導した。摂取エネルギー量の計算には、五訂増補日本食品成分表（食品成分研究調査会, 2005）を用い、計算上で不十分な点は管理栄養士が個別に聞き取り調査を行った（Miyaki et al., 2009b）。

### 最高酸素摂取量

自転車エルゴメータ（828E; Monark 社製）を用いて運動負荷試験を実施した。ペダルの回転数を 60 rpm に維持させ、0.25 もしくは 0.5 kp の負荷で 2 分間のウォーミングアップを行わせた後、毎分 0.25 kp ずつ段階的にトルクを高める多段階漸増負荷法により、主観的限界に至るまで運動させた。最高酸素摂取量は、自動呼気ガス分析機（Fitmate Pro; COSMED 社製）を用いて、主観的限界に至る直前の 30 秒間の平均値を採用した（Kumagai et al., 2016）。

## 歩数・身体活動量

歩数および身体活動量は、1 軸加速度計（Lifecoder EX; スズケン, 愛知, 日本）を用いて評価した（Ohkawara et al., 2011; Oshima et al., 2010）。被験者には、活動量計を起床から就寝まで、水中活動（入浴、水泳）および接触のあるスポーツ活動時を除き、腰部に常時装着するよう指示した（Mâsse et al., 2005）。活動量計の装着時間が 10 時間/日に満たないデータは除外し（Toriano et al., 2008）、教室開始前 1–2 週間の平均値を介入前、教室期間中の平均値を介入後の値とした。身体活動時間は、1.6–2.9 metabolic equivalents（METs）を低強度、3.0–5.9 METs を中等強度、6.0 METs 以上を高強度と定義して分類した。1 日の平均値は、下記の式により平日（月曜-金曜）と休日（土曜-日曜）を適切に重み付けした値を採用した（辻本ら, 2014）。

$$1 \text{ 日の平均値} = (\text{平日の平均値} \times 5 + \text{休日の平均値} \times 2) \div 7$$

### 4-2-4 統計処理

Shapiro–Wilk 検定によって、介入前および介入後の変数が正規分布しているかを確認した。正規性を確認できた変数は、対応のある *t* 検定によって介入効果を検討した。正規性を確認できなかった変数は、Wilcoxon の符号順位検定によって介入効果を検討した。各変数間の関連性は、正規性を確認できた変数は Pearson の相関係数、正規性を確認できなかった変数は Spearman の順位相関係数を用いて検討した。データは、「平均値 ± 標準偏差」で示した。すべての統計処理では、IBM SPSS statistics 25.0 for Mac（IBM 社製）を用い、危険率 5 %未満（両側）を統計学的に有意と見なした。

### 4-3 結果

図 4-1 に併用介入前後の摂取エネルギー量、身体活動量の変化を示す。12 週間の食習慣改善および有酸素性運動により、摂取エネルギー量は有意に低下し ( $-679 \pm 521$  kcal/day,  $p < 0.01$ )、身体活動量は有意に増加した ( $170 \pm 124$  kcal/day,  $p < 0.01$ ) (図 4-1)。表 4-1 に併用介入前後の身体特性を示す。また、最高酸素摂取量、歩数も有意に増加した (表 4-1)。すなわち、肥満男性における食習慣改善および定期的な有酸素性運動は適切に行われたことが示唆される。

図 4-2 に、併用介入前後の体重、BMI を示す。介入後、体重 ( $-12.7 \pm 3.7$  kg,  $p < 0.01$ ) および BMI ( $-4.4 \pm 1.2$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0.01$ ) は有意に低下した (図 4-2)。ウエスト周囲径および体脂肪率も有意な低下が認められた (表 4-1)。表 4-1 に、併用介入前後の身体特性、血圧、血液生化学データを示す。介入により、中性脂肪、LDL コレステロール、有意に低下し、HDL コレステロールは有意に増加した。また、3 大栄養素は脂質摂取量、炭水化物摂取量が介入後に有意に低下し、タンパク質摂取量に介入後有意な変化は認められなかった。図 4-3 に介入前後における糖代謝指標の変化を示す。介入後、血糖 ( $-6.2 \pm 9.9$  mg/dL,  $p < 0.01$ )、インスリン ( $-4.0 \pm 3.4$   $\mu$ U/mL,  $p < 0.01$ )、HOMA-IR ( $-1.0 \pm 0.8$  U,  $p < 0.01$ ) はいずれも有意に低下した。

表 4-2 に、介入前後の血中アミノ酸濃度を示す。介入後、3 メチル-ヒスチジン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、 $\beta$ -アラニン、グリシン、セリン、タウリンの血中濃度は有意に増加し、アラニン、シスチン、グルタミン酸、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、プロリン、チロシン、バリンの血中濃度は有意に低下した。

各血中アミノ酸濃度の変化量と、体重、BMI、ウエスト周囲径、体脂肪率、血圧、中性脂肪、HDL コレステロール、LDL コレステロール、空腹時血糖、空腹時インスリン、HOMA-IR の変化量の関連性を検討したが、有意な関連は認められなかった。

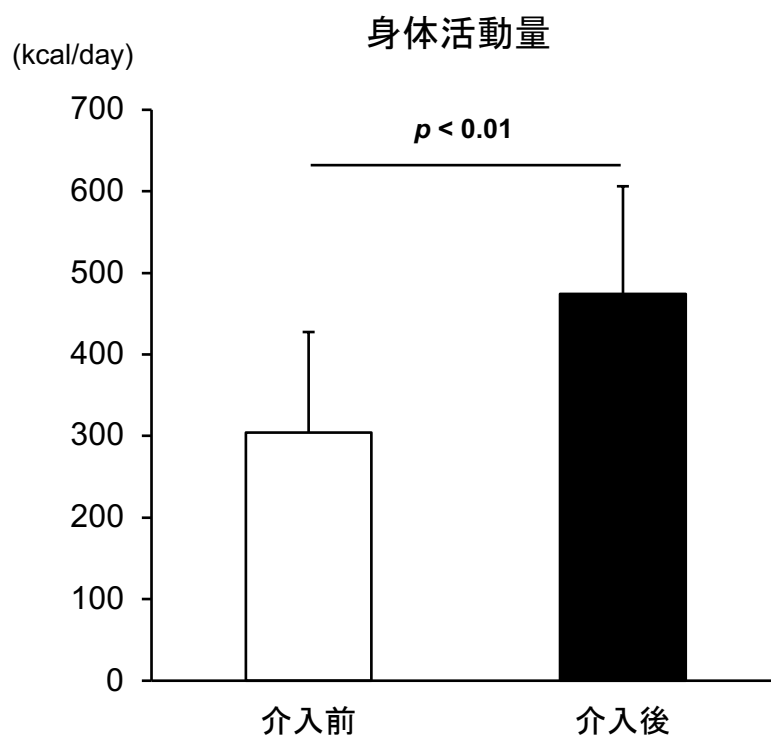
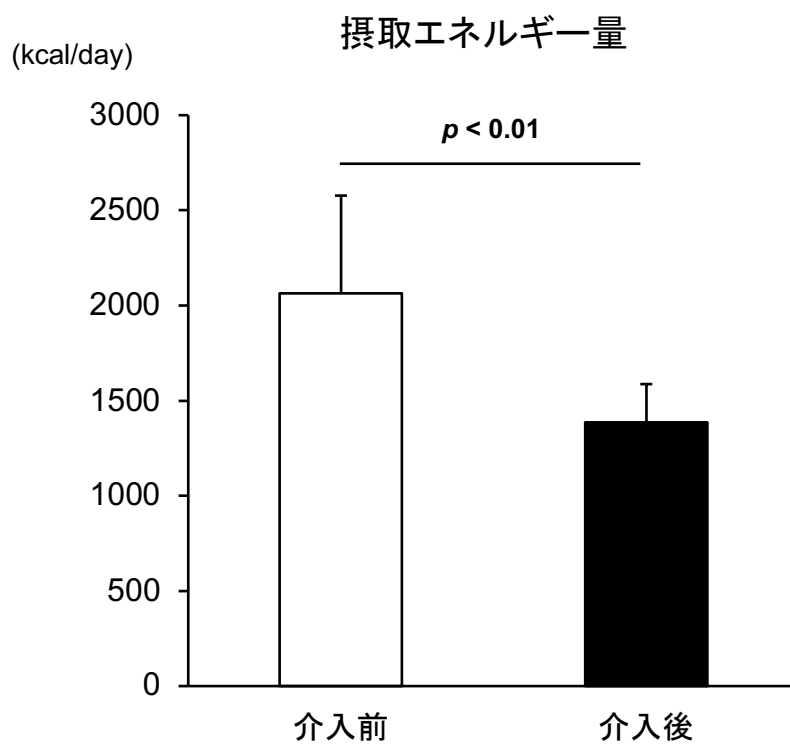


図 4-1. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入前後における摂取エネルギー量および身体活動量. 平均値 ± 標準偏差.

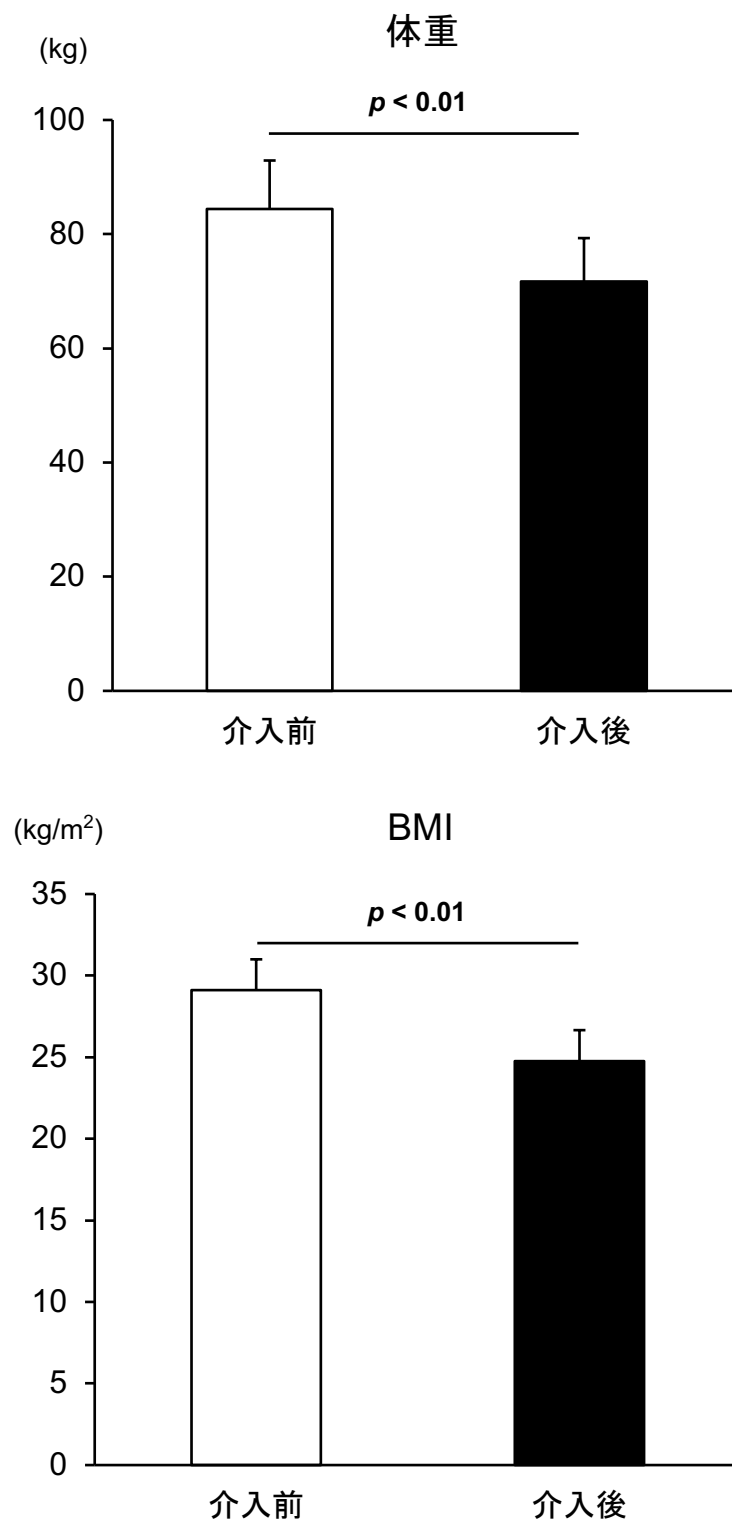


図 4-2. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入前後における体重および BMI. 平均値 ± 標準偏差.

表 4-1. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入前後における身体特性

	介入前	介入後	<i>p</i>
年齢, 歳	49 ± 10	-	
身長, cm	170 ± 6	-	
ウエスト周囲径, cm	98.9 ± 5.6	85.5 ± 6.3	<b>&lt; 0.01</b>
体脂肪率, %	23.5 ± 2.9	17.8 ± 3.4	<b>&lt; 0.01</b>
中性脂肪, mg/dL	174 ± 158	75 ± 36	<b>&lt; 0.01</b>
HDL コレステロール, mg/dL	49 ± 9	52 ± 11	<b>&lt; 0.05</b>
LDL コレステロール, mg/dL	127 ± 27	113 ± 27	<b>&lt; 0.01</b>
タンパク質摂取量, kcal/日	73 ± 3	69 ± 2	0.20
脂質摂取量, kcal/日	61 ± 3	41 ± 1	<b>&lt; 0.01</b>
炭水化物摂取量, kcal/日	281 ± 16	183 ± 6	<b>&lt; 0.01</b>
最高酸素摂取量, mL/kg/分	29.7 ± 5.0	37.2 ± 6.3	<b>&lt; 0.01</b>
歩数, 歩/日	7966 ± 2152	12005 ± 2549	<b>&lt; 0.01</b>

平均値 ± 標準偏差.

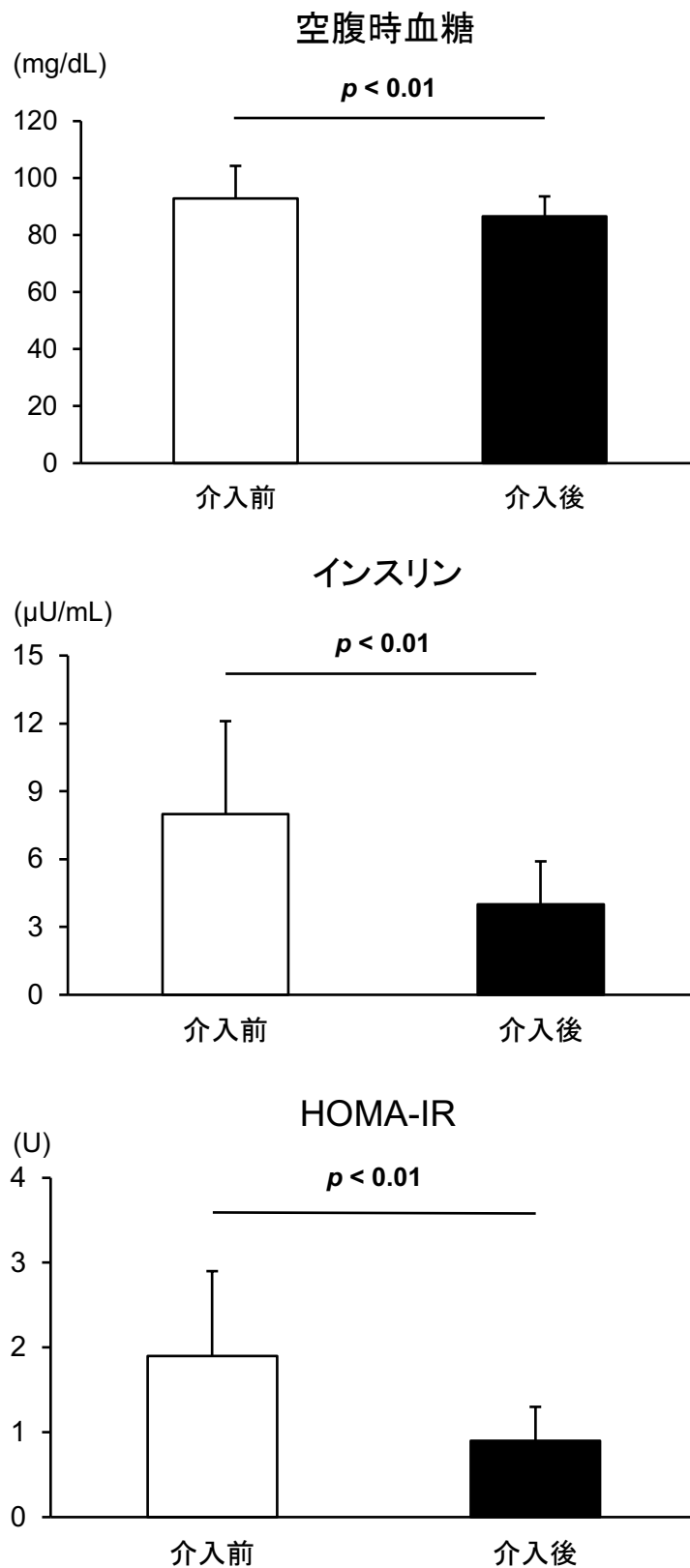


図 4-3. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入前後における空腹時血糖、インスリンおよび HOMA-IR. 平均値  $\pm$  標準偏差.

表 4-2. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入前後における血中アミノ酸濃度の変化

nmol/mL	介入前			介入後			p
グルタミン代謝関連							
グルタミン酸	40.5	±	2.7	24.6	±	1.3	< 0.01
プロリン	122.4	±	4.9	110.8	±	5.2	< 0.01
ヒスチジン	53.0	±	1.2	51.3	±	1.2	0.17
分岐鎖アミノ酸代謝関連							
バリン	188	±	4.6	174.6	±	4.4	< 0.05
ロイシン	103.2	±	2.8	92.4	±	2.1	< 0.01
イソロイシン	54.8	±	1.6	48.5	±	1.2	< 0.01
アラニン代謝関連							
アラニン	282.0	±	9.4	254.3	±	7.5	< 0.01
β-アラニン	3.4	±	0.1	3.8	±	0.1	< 0.05
芳香族アミノ酸代謝関連							
チロシン	48.7	±	1.6	42.2	±	1.4	< 0.01
フェニルアラニン	44.2	±	1.3	42.7	±	1.2	0.10
含硫アミノ酸代謝関連							
タウリン	48.5	±	1.9	53.4	±	1.6	< 0.05
シスチン	2.8	±	0.1	2.7	±	0.1	< 0.05
メチオニン	19.3	±	0.6	17.9	±	0.4	< 0.05
尿素サイクル関連							
シトルリン	26.5	±	0.9	26.9	±	0.8	0.63
アルギニン	64.9	±	2.0	64.6	±	1.8	0.78
オルニチン	41.9	±	1.4	39.8	±	1.3	0.11
アンモニア	43.6	±	1.8	43.8	±	2.3	0.94
尿素	3604.1	±	138.7	3943.7	±	204.3	0.07
グリシン・セリン・スレオニン代謝関連							
グリシン	158.3	±	6.6	194.5	±	6.7	< 0.01
セリン	83.5	±	2.9	102.8	±	2.6	< 0.01
P-セリン	3.3	±	0.1	3.3	±	0.1	0.91
スレオニン	95.4	±	2.9	96.9	±	2.9	0.66
システイン	39.1	±	1.1	39.3	±	1.2	0.93
その他							
1M-ヒスチジン	5.0	±	0.9	5.8	±	1.2	0.61
3M-ヒスチジン	8.3	±	0.5	9.7	±	0.7	< 0.01



<b>α-アミノ酪酸</b>	22.0	±	1.0	25.2	±	0.8	<b>&lt; 0.01</b>
α-アミノアジピン酸	8.3	±	0.3	9.4	±	0.5	0.07
ヒドロキシプロリン	7.8	±	0.5	9.0	±	0.8	0.14
リジン	147.7	±	3.6	147.7	±	3.5	0.92
モノエタノールアミン	5.0	±	0.2	5.0	±	0.2	0.80
1M-ヒスチジン	5.0	±	0.9	5.8	±	1.2	0.61

平均値 ± 標準偏差.

#### 4-4 考察

研究課題 1 では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入後に 3 メチル-ヒスチジン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、 $\beta$ -アラニン、グリシン、セリン、タウリンの血中濃度は有意に増加し、アラニン、シスチン、グルタミン酸、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、プロリン、チロシン、バリンの血中濃度は有意に低下することを示した。これらの結果は、食習慣改善と有酸素性運動を併用した生活習慣改善が、肥満男性の多数の血中アミノ酸濃度を大きく変動させるために有効な方法であることを示している。

いくつかの先行研究では、高度肥満患者における胃切除および胃バイパス手術を介した劇的な体重減少 (20-30 kg) の後に血中アミノ酸濃度 (バリン、ロイシン、イソロイシン、およびチロシン) が低下することを報告している (Tan et al., 2016)。しかしながら、これらの手術は侵襲的で高額な医療費負担を伴うことに加え、日本では BMI  $\geq 35 \text{ kg/m}^2$  という適応条件があるため、万人に適応できるものはない (日本肥満学会, 2016)。一方で、食習慣改善や有酸素運動の介入は、生活習慣病の予防に有効な方法であることが提案されている (日本肥満学会, 2016)。実際に、メタボリックシンドローム患者を対象とした生活習慣改善による血中アミノ酸濃度の変化を検討した先行研究はいくつか存在する。Kamaura et al. (2010) は、メタボリックシンドローム患者における食事指導と運動指導を組み合わせた 6 ヶ月間の生活習慣改善により、体重は約 3 kg 減少したこと、ヒスチジン、シスチン、グリシン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、オルニチンの血中濃度は有意に上昇したこと、ロイシン、フェニルアラニン、アルギニンの血中濃度は有意に低下したことを報告している (Kamaura et al., 2010)。この先行研究では、食事および運動に関する指導を月に 1 回の来院時にカウンセリング形式で行うという方法を用いており、本研究課題のように指導者が毎日の食事内容を確認して助言し、かつ監視下において運動指導を行う方法とは大きく異なる。また、Tochikubo et al. (2016) は、メタボリッ

クシンドローム患者における食事指導と運動指導を組み合わせた 3 ヶ月間の生活習慣改善により、3%以上の減量に成功した群では、グリシンの血中濃度は有意に上昇し、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリンの血中濃度は有意に低下したことを報告している。ただし、3%以上の減量を達成できなかった群においては、これらの血中アミノ酸濃度が介入によって有意に変化しなかったことも示されている (Tochikubo et al., 2016)。この先行研究においても、食習慣改善や運動習慣に関する口頭の指導はあったものの、毎日の食事記録に基づく食事指導や監視下における運動指導は行われていない。一方、本研究課題では、毎日の食事記録に基づく 1 回/週の食事教室および監視下における 3 回/週の運動教室を 12 週間にわたって実施した。その結果、体重は平均約 13 kg 減少し、3 メチル-ヒスチジン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、 $\beta$ -アラニン、グリシン、セリン、タウリンの 6 種の血中濃度は有意に増加し、アラニン、シスチン、グルタミン酸、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、プロリン、チロシン、バリンの 9 種の血中濃度は有意に低下することを示した。このことから、本研究課題では、肥満男性における非侵襲的方法による生活習慣改善介入は、血中アミノ酸濃度の変化に好影響を及ぼし、侵襲的な胃バイパス術などの減量方法を使用する場合と同程度の効果があることを示した。したがって、肥満男性において血中アミノ酸濃度を変化させるためには、食習慣改善および有酸素性運動による生活習慣改善が有効であると考えられる。

先行研究では、肥満者やメタボリックシンドロームの者において複数の血中アミノ酸濃度が高値を示すことが報告されている (Newgard et al., 2009)。実際に、多くの先行研究で、標準体重者と比較して肥満者や代謝異常のある肥満者において、分岐鎖アミノ酸であるバリン、ロイシン、イソロイシン、芳香族アミノ酸であるチロシン、フェニルアラニン、グルタミン、グルタミン酸、アルギニンなどのアミノ酸の血中濃度が高値を示すことが報告されている (Badoud et al., 2014; Yamakado et al., 2015)。これらは、肥満者におけるインスリン抵抗性に伴う体タンパク質分解の結果、血中濃度が上昇する

ことが知られている。その一方で、糖新生に利用される糖原性アミノ酸であるグリシンやセリンは血中濃度が低下することが明らかにされている (Badoud et al., 2014; Newgard et al., 2009)。本研究課題においても、肥満者における食習慣改善および有酸素性運動による生活習慣改善介入後にバリン、ロイシン、イソロイシン、チロシン、グルタミン酸の血中濃度が有意に低下すること、さらに、グリシン、セリンの血中濃度が有意に上昇することが示された。生活習慣改善介入により、インスリン抵抗性が改善したことで変化していた血中アミノ酸濃度が上昇もしくは低下した可能性が考えられる。また、3 メチル-ヒスチジンは骨格筋の構成成分であり、骨格筋分解を反映し血中濃度が上昇することが明らかにされている (山下, 2007)。本研究課題では、肥満男性における生活習慣改善介入後に 3 メチル-ヒスチジンが有意に高値を示した。生活習慣改善で行なった食習慣改善方法は、4 群点数法を用いてバランスよく摂取エネルギー量を減少させる方法であるが、介入前後の摂取エネルギー量を比較すると、平均 700 kcal の制限であった。このことから、生活習慣改善よりインスリン抵抗性は改善したものの、筋タンパク質分解が筋タンパク質合成を上回り、体タンパク質からアミノ酸が産生され、血中 3 メチル-ヒスチジン濃度が上昇した可能性が考えられる。

本研究課題では、食習慣改善および定期的な有酸素性運動による血中アミノ酸濃度の変化に影響した因子を探索するため、介入前後における様々な指標の変化量が各血中アミノ酸濃度の変化量と関連するかを検討した。しかし、血中アミノ酸濃度と有意に関連する指標は抽出できなかった。いくつかの先行研究の結果から、肥満の改善に伴って血中アミノ酸濃度は変動すると思っていたが、体重をはじめとする肥満指標の変化量と血中アミノ酸濃度の変化量には明確な関連性が認められなかった。これらのことから、本研究課題において、肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入による血中アミノ酸濃度の変化は介入による体重減少に独立していたことが示唆された。すなわち、血中アミノ酸濃度の変化は、単に体重の減少により生じるも

のではなく、他の因子が関与する可能性がある。また、外科的手術による減量を行なった先行研究において、血中 BCAA 濃度の変化はインスリン抵抗性の変化と有意な関連性を示すことが報告されている (Yamada et al., 2015)。さらに、チロシンはインスリンシグナルに影響を与える代謝因子としての働きを有することが報告されている (Ferguson et al., 2013; Hellmuth et al., 2016)。すなわち、血中チロシン濃度の低下は、インスリン抵抗性の改善に寄与する可能性がある。しかしながら、血中 BCAA 濃度の変化および血中チロシン濃度の変化のいずれにおいてもインスリン抵抗性の変化と有意な関連性は認められなかった。

本研究課題の限界点として、対照群がないことが挙げられる。このことから、本研究の対象者の血中アミノ酸濃度が標準体重者と比較して変動しているかは明らかにすることはできなかった。しかしながら、先行研究において、特に血中 BCAA 濃度を四分位に分けた検討の結果、第 1 四分位から第 4 四分位に上がるにつれて、糖尿病発症リスクが段階的に上昇することが示されている (Wang et al., 2011)。すなわち、肥満者において、血中 BCAA 濃度を低値に保つことが重要であることが示唆されることから、本研究課題における肥満者における食習慣改善および有酸素性運動の併用介入により血中 BCAA 濃度が低下するという結果は、重要な知見になると考えられる。

#### 4-5 まとめ

研究課題 1 において、肥満男性における 12 週間の食習慣改善と有酸素性運動を併用した生活習慣改善は、3M-ヒスチジン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、 $\beta$ -アラニン、グリシン、セリン、タウリンの血中濃度を有意に増加させ、アラニン、シスチン、グルタミン酸、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、プロリン、チロシン、バリンの血中濃度を有意に低下させることを明らかにした。このことから、介入効果の高い食習慣改善および有酸素性運動による生活習慣改善は、外科的手術と同等に血中アミノ酸濃度の変動に効果的である可能性が示された。

## 第 5 章 研究課題 2: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入が血中 BCAA 濃度に及ぼす影響

### 5-1 緒言

研究課題 1 では、肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動の併用介入により、6 種のアミノ酸の血中濃度が上昇し、9 種のアミノ酸の血中濃度が低下することが明らかになった。変化したアミノ酸の中でも特に BCAA は肥満者において高値を示すこと、さらに血中 BCAA 濃度の高値は、糖尿病発症と関与することが明らかにされている (Wang et al., 2011)。このことから、肥満者において、血中 BCAA 濃度を低値に保つことが重要であると考えられる。研究課題 1 では、食習慣改善および有酸素性運動の併用介入により、血中 BCAA 濃度が低下することが明らかになったが、併用であったため、血中 BCAA 濃度の低下に、食習慣改善と有酸素性運動のどちらが効果的であるかは不明である。

そこで研究課題 2 では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入が血中 BCAA 濃度に及ぼす影響を検討することを目的として研究を実施した。

### 5-2 方法

#### 5-2-1 対象者

本研究課題では、筑波大学にて行われた減量教室の参加者を対象とした。参加者は、自ら食事介入群または運動群を選択し、それぞれ 12 週間の食習慣改善と有酸素性運動を支援した。本研究では、肥満の定義を  $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$  とし (日本肥満学会肥満症診断基準検討委員会, 2011)、教室参加者の中から、介入前の時点で肥満に該当しなかった者、糖尿病に罹患していた者、血糖降下薬を服用していた者、介入期間中に研究

参加を中途辞退した者、介入前または介入後の測定データに不備があった者を除外し、最終的に食習慣改善群は 18 名、有酸素性運動群は 27 名を解析対象とした。なお、本研究課題は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得ており、すべての参加者に対して研究の目的と内容について説明し、研究に参加する同意を得て実施した。

## 5-2-2 介入方法

本研究課題では、食事介入群には 12 週間の食習慣改善、運動介入群には 12 週間の有酸素性運動をそれぞれ実施した。対象者は自身で介入群を選択した。

### 食習慣改善

対象者は、筑波大学にて行われた 12 週間の食事教室に参加した。教室では、1 回 90 分間、週 1 回の集団指導を行った。指導内容としては、4 群点数法 (香川, 2002) を用いて、1 食あたり 560 kcal、1 日あたり 1680 kcal 程度を目標に、バランスよく摂取エネルギー量を制限するよう指導した。4 群点数法を用いた食事は、毎食、第 1 群 (牛乳・乳製品、卵) から 1 点 (80 kcal)、第 2 群 (魚介類、肉類、豆・豆製品) から 2 点 (160 kcal)、第 3 群 (野菜、芋類、きのこ・海藻、果物) から 1 点 (80 kcal)、第 4 群 (穀物、砂糖、油脂、その他の嗜好品) から 3 点 (240 kcal) の範囲内で、3 食の合計点数が 21 点 (1680 kcal) 以内になるよう、対象者自身が食品を選択して摂取するように指導した。介入期間中は、毎食の食事内容を食事日誌に記録させた。食事日誌を週に 1 度の集団指導の際に指導者が確認し、必要に応じて個別指導を行った。本研究における食事指導は、肥満男性を対象とした先行研究と同様の方法を採用した (Miyaki et al., 2009b)。

### 定期的な有酸素性運動

対象者は、筑波大学にて行われた 12 週間の運動教室に参加した。教室は 1



回 90 分間、週に 1-3 回の頻度で実施した。運動内容は、教室の初めにウォーミングアップとしてストレッチングを 10-15 分間、次に主運動としてウォーキングやジョギングなどの有酸素性運動を 40-60 分間、最後に自重負荷運動およびストレッチングを 20-30 分間行った。教室における運動強度は、Borg スケールによる自覚的運動強度 (RPE) の 12-14 あたり (中等強度) を意識して保つように指導した。また、参加日数の少ない者に関しては、積極的に自宅での運動を行うよう指導した。本研究における運動指導は、肥満男性を対象とした先行研究と同様の方法を採用した (Miyaki et al., 2009a; 笹井ら, 2008)。

### 5-2-3 測定項目

対象者には、形態指標、体組成、血圧の測定および採血の 24 時間前から激しい運動を避けるように、12 時間前から水以外の飲食を控えるように指示した。これらの測定および採血は、室温を 24-26°C に調節した静かな部屋で実施した。運動負荷試験は、採血後に対象者が軽食を摂取してから約 30 分後に実施した。

#### 形態指標・体組成

身長は 0.1 cm 単位 (TG-200; ヤガミ社製)、体重は 0.1 kg 単位 (TBF-551; タニタ社製) で計測し、体重/身長<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>) として BMI を算出した。ウエスト周囲径は 0.1 cm 単位で、伸縮性のないメジャーを用いて臍位で測定した。体脂肪率、除脂肪体重は、二重エネルギー X 線吸収法 (QDR 4500A; Hologic 社製) により、全身スキャンモードで測定した。

#### 血液生化学データ

熟練した看護師が、肘正中皮静脈から採血を行った。採血後、血液を 4°C、3000

rpm で 15 分間遠心分離した。血漿サンプルを用いて、空腹時血糖を測定した。血清サンプルを用いて、空腹時インスリン、HDL コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪を測定した。得られた血液データから、インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR を以下の式で求めた。

$$HOMA-IR = [\text{空腹時血糖 (mg/dL)}] \times [\text{空腹時血中インスリン (\mu U/mL)}] / 405$$

#### 血中アミノ酸濃度

得られた血漿サンプルと 3%スルホサリチル酸水溶液を等量混和し、4℃の冷蔵庫で 1 時間放置した。その後、混和液を 4℃、3000 rpm で 15 分間遠心分離してタンパク質を分離させ、上清をろ過精度 0.45 μm のフィルターでろ過し、得られたサンプルを測定まで-80℃で凍結保存した。測定は、筑波大学研究基盤センター分析部門に委託し、イオン化交換クロマトグラフィーと可視吸光検出器を組み合わせた、全自動アミノ酸分析機（JEOL JLC-500/V2; 日本電子株式会社製）を用いて行った。

#### 摂取エネルギー量

摂取エネルギー量は介入前と介入 10 週目において、3 日間（平日 2 日と休日 1 日）の自己申告制の食事記録（秤量法）をもとに熟練した管理栄養士が算出した。秤量が困難な製品や調味料に関しては、製造社名や分量を記入するよう指導した。摂取エネルギー量の計算には、五訂増補日本食品成分表（食品成分研究調査会, 2005）を用い、計算上で不十分な点は管理栄養士が個別に聞き取り調査を行った（Miyaki et al., 2009b）。

#### 最高酸素摂取量

自転車エルゴメータ（828E; Monark 社製）を用いて運動負荷試験を実施し

た。ペダルの回転数を 60 rpm に維持させ、0.25 もしくは 0.5 kp の負荷で 2 分間のウォーミングアップを行わせた後、毎分 0.25 kp ずつ段階的にトルクを高める多段階漸増負荷法により、主観的限界に至るまで運動させた。最高酸素摂取量は、自動呼気ガス分析機 (Fitmate Pro; COSMED 社製) を用いて、主観的限界に至る直前の 30 秒間の平均値を採用した (Kumagai et al., 2016)。

#### 歩数・身体活動量

活動量計 (Active style Pro HJA-350IT; Omron 社製) を用いて、歩数を計測した (Ohkawara et al., 2011; Oshima et al., 2010)。被験者には、活動量計を起床から就寝まで、水中活動 (入浴、水泳) および接触のあるスポーツ活動時を除き、腰部に常時装着するように指示した (Mâsse et al., 2005)。活動量計の装着時間が 10 時間/日に満たないデータは除外し (Toriano et al., 2008)、教室開始前 1-2 週間の平均値を介入前、教室期間中の平均値を介入後の値とした。身体活動時間は、1.6-2.9 METs を低強度、3.0-5.9 METs を中等強度、6.0 METs 以上を高強度と定義して分類した。1 日の平均値は、下記の式により平日 (月曜-金曜) と休日 (土曜-日曜) を適切に重み付けした値を採用した (辻本ら, 2014)。

$$1 \text{ 日の平均値} = (\text{平日の平均値} \times 5 + \text{休日の平均値} \times 2) \div 7$$

#### **5-2-4 統計処理**

Shapiro-Wilk 検定によって、介入前および介入後の変数が正規分布しているかを確認した。正規性を確認できた変数は、対応のある *t* 検定によって介入効果を検討した。正規性を確認できなかった変数は、Wilcoxon の符号順位検定によって介入効果を検討した。各変数間の関連性は、正規性を確認できた変数は Pearson の相関係数、正規性を確認できなかった変数は Spearman の順位相関係数を用いて検討した。Two-way

repeated ANOVA にて、時間の主効果、群間差、交互作用の影響を検討した。介入前のデータのみの群間比較は、対応のない  $t$  検定にて検討した。データは、「平均値  $\pm$  標準偏差」で示した。すべての統計処理では、IBM SPSS statistics 25.0 for Mac（IBM 社製）を用い、危険率 5 %未満（両側）を統計学的に有意と見なした。

### 5-3 結果

図 5-1 に介入前後における摂取エネルギー量、図 5-2 に運動群における最高酸素摂取量および身体活動量を示す。また、表 5-1 に介入前後における各群の身体特性を示す。食事介入群では、摂取エネルギー量は有意に低下した ( $-861 \pm 645$  kcal/day,  $p < 0.01$ ) (図 5-1)。一方で、運動介入群では摂取エネルギー量に有意な変化は認められなかった ( $-107 \pm 427$  kcal/day,  $p > 0.05$ ) (図 5-1)。また、食事介入群では、三大栄養素摂取量はいずれも有意に低下した (表 5-1)。運動介入群において、介入後に最高酸素摂取量は有意に増加し ( $+5.6 \pm 9.0$  mL/kg/分,  $p < 0.01$ ) (図 5-2)、身体活動時間、歩数のいずれも有意に増加した (表 5-1)。食事介入群では、身体活動量の評価は行なっていないが、アンケート調査により介入前後の身体活動に変化がないことを確認した。すなわち、肥満男性における食習慣改善および定期的な有酸素性運動は適切に行われたことが示唆される。

図 5-3 に介入による体重の変化を示す。食事介入 ( $-9.0 \pm 2.6$  kg,  $p < 0.01$ ) および運動介入 ( $-2.1 \pm 3.1$  kg,  $p < 0.01$ ) のいずれにおいても体重は有意に減少したが、介入による体重の変化には交互作用が認められた ( $p < 0.01$ )。図 5-4 に介入による除脂肪体重の変化を示す。食事介入 ( $-4.0 \pm 1.8$  kg,  $p < 0.01$ ) および運動介入 ( $-0.8 \pm 1.7$  kg,  $p < 0.05$ ) のいずれにおいても除脂肪体重は有意に減少したが、介入による体重の変化には交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。さらに、BMI、ウエスト周囲径は両群ともに有意に低下し、その変化には交互作用が認められた (表 5-1)。LDL コレステロール、中性脂肪は食事介入群でのみ有意に低下し、HDL コレステロールは両群に有意な変化は認められなかった (表 5-1)。

図 5-5 に介入前後における糖代謝指標の変化を示す。介入後、血糖 ( $-7.9 \pm 19.7$  mg/dL,  $p < 0.01$ )、インスリン ( $-5.1 \pm 3.7$   $\mu$ U/mL,  $p < 0.01$ )、HOMA-IR ( $-1.5 \pm 1.1$  U,  $p < 0.01$ ) は食事介入群でいずれも有意に低下し、インスリン ( $-1.9 \pm 4.2$   $\mu$ U/mL,  $p = 0.054$ )、

HOMA-IR ( $-0.5 \pm 1.1$  U,  $p = 0.098$ ) は運動介入群で低下傾向が認められた。また、介入による変化にはそれぞれ交互作用が認められた。

図 5-6 に、介入前後の血中 BCAA 濃度を示す。運動介入群でのみバリン ( $-23.8 \pm 40.0$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.01$ )、ロイシン ( $-12.4 \pm 23.9$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.01$ ) は有意に低下し、イソロイシン ( $-6.4 \pm 15.3$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p = 0.08$ ) には低下傾向が認められたが、食事介入群ではいずれも有意な変化は認められなかった。

有酸素性運動による血中 BCAA 濃度の変化に関連した因子を調査するため、各因子との関連性を検討した。その結果、バリンの変化率とインスリンの変化率の間に有意な関連性 ( $r = 0.41$ ,  $p < 0.05$ )、バリンの変化率と HOMA-IR の変化率の間に関連する傾向が認められた ( $r = 0.38$ ,  $p = 0.05$ ) (図 5-7)。

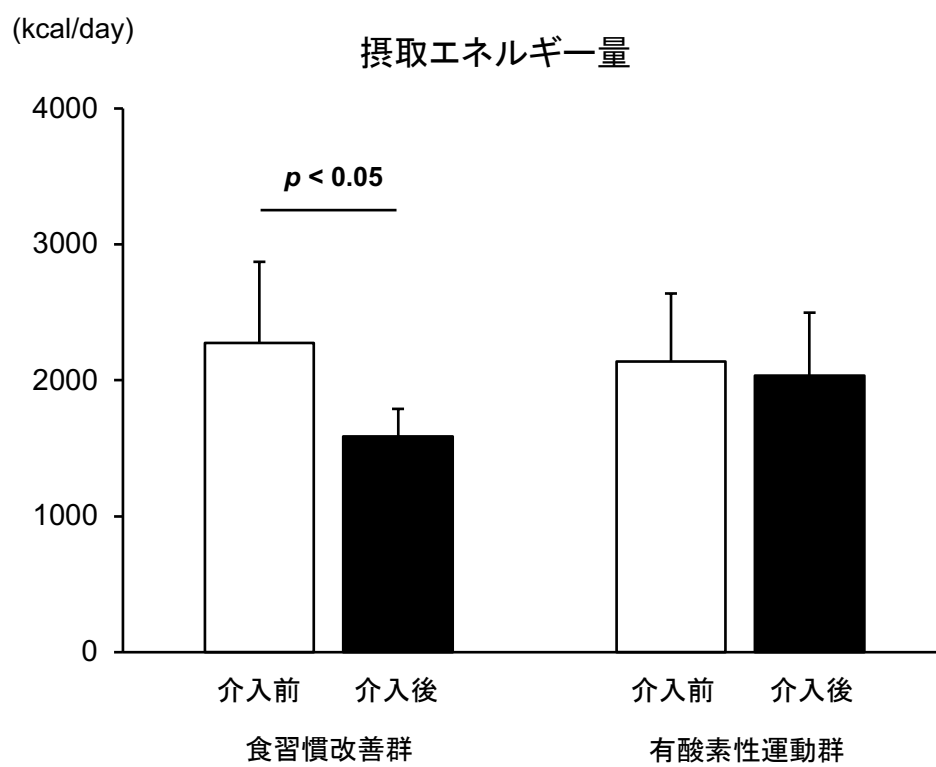


図 5-1. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における摂取エネルギー量. 平均値  $\pm$  標準偏差.

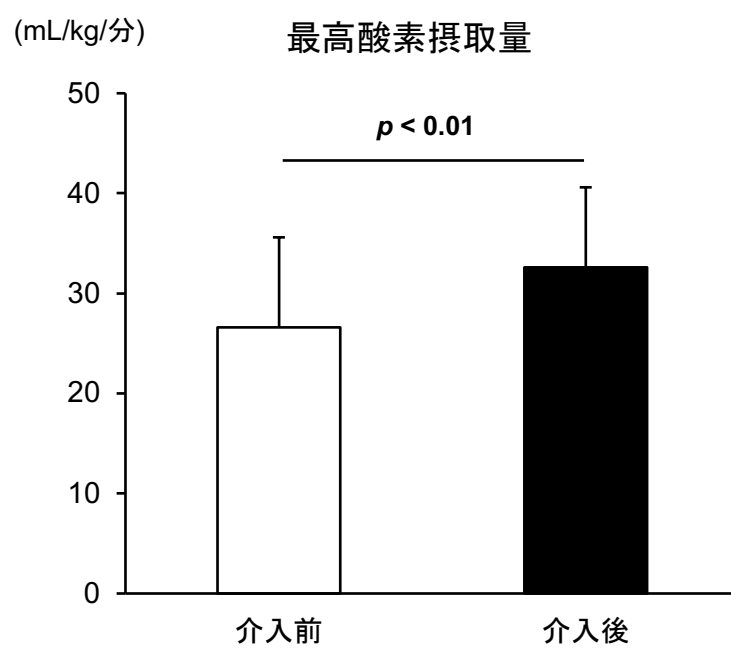


図 5-2. 12 週間の有酸素性運動単独介入前後における最高酸素摂取量. 平均値 ± 標準偏差.



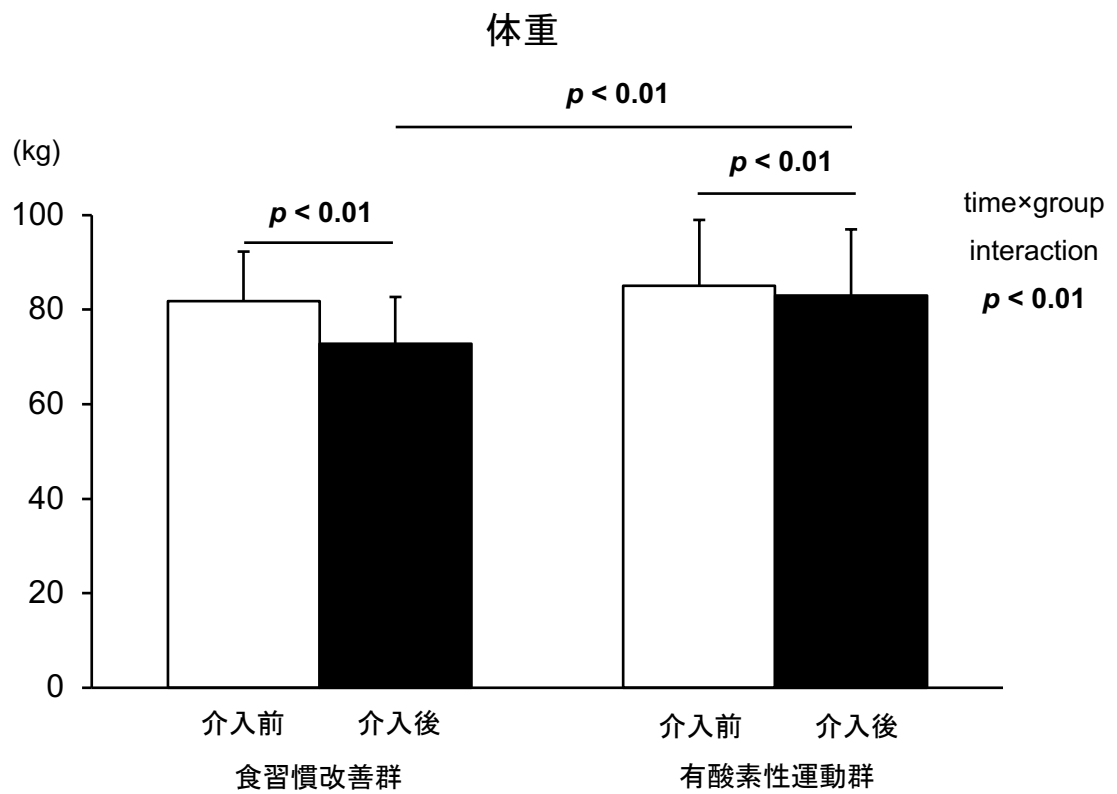
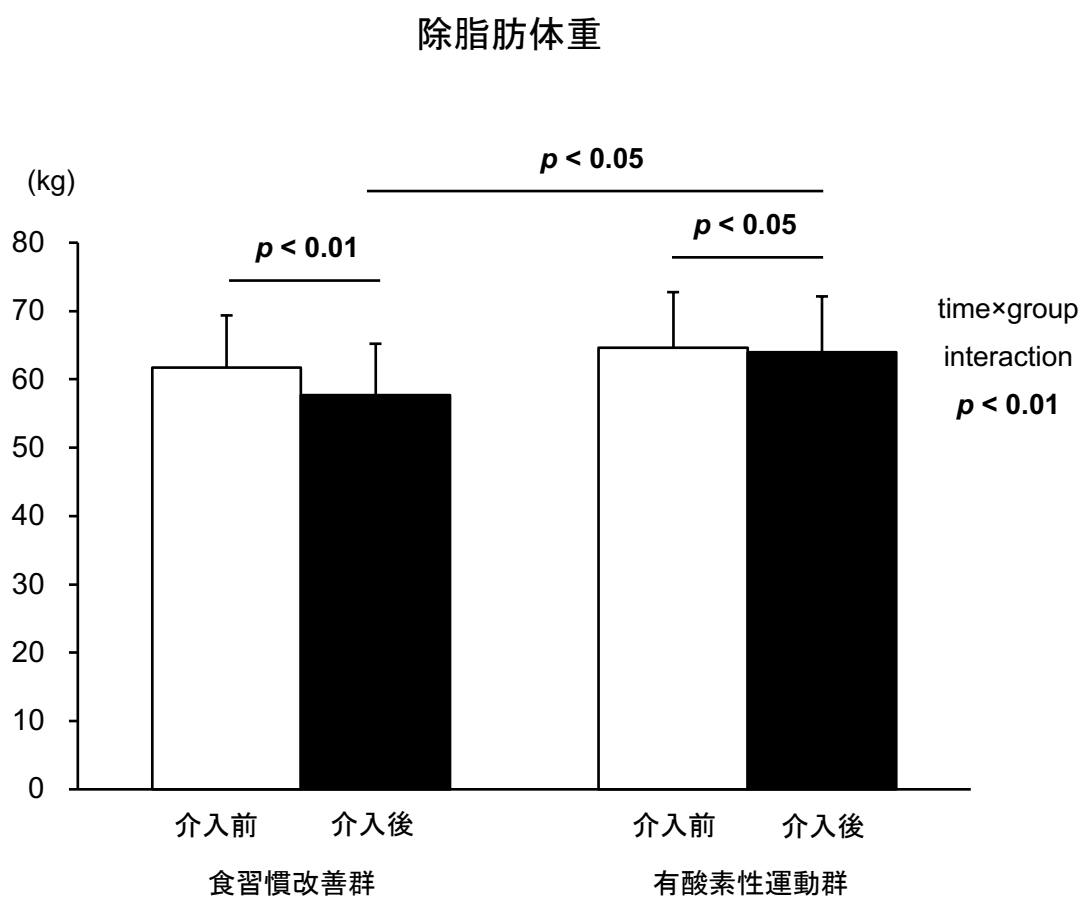


図 5-3. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における体重. 平均値 ± 標準偏差.



**図 5-4.** 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における除脂肪体重. 平均値 ± 標準偏差.

表 5-1. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における身体特性.

	食習慣改善群		有酸素性運動群		交互作用 <i>p</i>
	介入前	介入後	介入前	介入後	
n	18		27		
年齢, 歳	53 ± 10	-	47 ± 8 <sup>+</sup>	-	
身長, cm	168 ± 7	-	174 ± 5 <sup>+</sup>	-	
体格指数, kg/m <sup>2</sup>	28.8 ± 2.4	25.7 ± 2.3*	28.1 ± 3.7	27.4 ± 3.7*	<b>&lt; 0.01</b>
ウエスト周囲径, cm	99 ± 9	90 ± 8*	99 ± 9.7	95.8 ± 10.3**	<b>&lt; 0.01</b>
体脂肪率, %	25.0 ± 4.3	21.6 ± 5.1*	25.2 ± 4.6	24.7 ± 4.5 <sup>+</sup>	<b>&lt; 0.01</b>
HDL-コレステロール, mg/dL	53 ± 12	53 ± 11	55 ± 11	56 ± 11	0.25
LDL-コレステロール, mg/dL	133 ± 38	111 ± 37*	120 ± 41	117 ± 33	<b>0.02</b>
中性脂肪, mg/dL	151 ± 78	93 ± 63*	118 ± 67	106 ± 75	<b>0.03</b>
HbA1c, %	5.6 ± 0.3	5.5 ± 0.3*	5.6 ± 0.3	5.6 ± 0.3	0.26
タンパク質摂取量, g/日 <sup>\$</sup>	82 ± 21	72 ± 14*	80 ± 25	72 ± 14*	0.35
脂質摂取量, g/日 <sup>\$</sup>	70 ± 25	50 ± 10*	66 ± 19	57 ± 17	0.06
炭水化物摂取量, g/日 <sup>\$</sup>	300 ± 95	207 ± 27*	272 ± 72	267 ± 65	<b>0.01</b>
低強度身体活動時間, 分/日	-	-	248 ± 63	251 ± 52*	-
中高強度身体活動時間, 分/日	-	-	53 ± 22	80 ± 28*	-
歩数, 歩/日	-	-	7707 ± 2652	10967 ± 3377*	-

平均値 ± 標準偏差. <sup>\$</sup>n = 16. \**p* < 0.05 vs. 介入前, <sup>+</sup>*p* < 0.05 vs. 群間同ポイント.

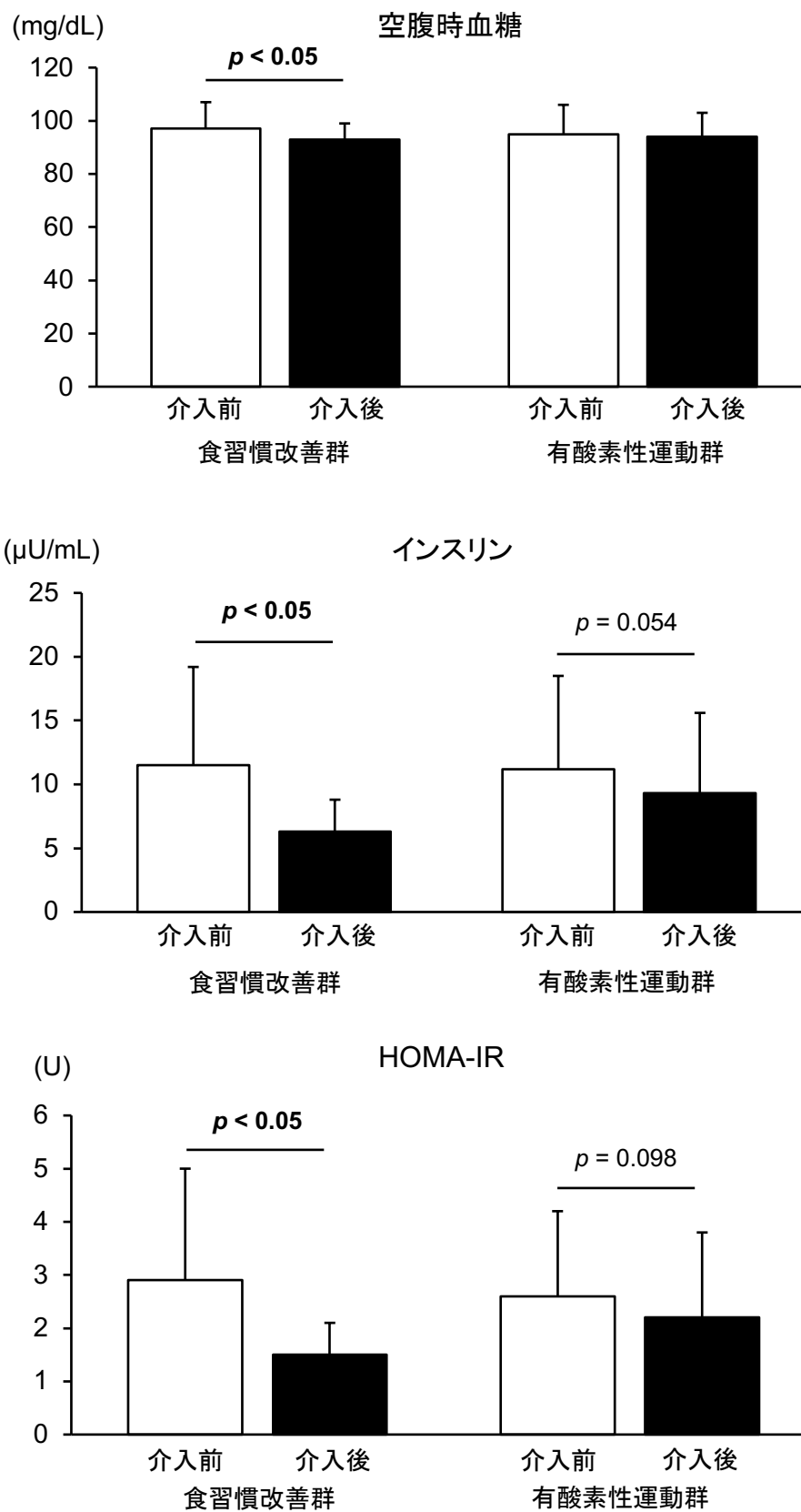


図 5-5. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における空腹時血糖，インスリンおよび HOMA-IR. 平均値±標準偏差.

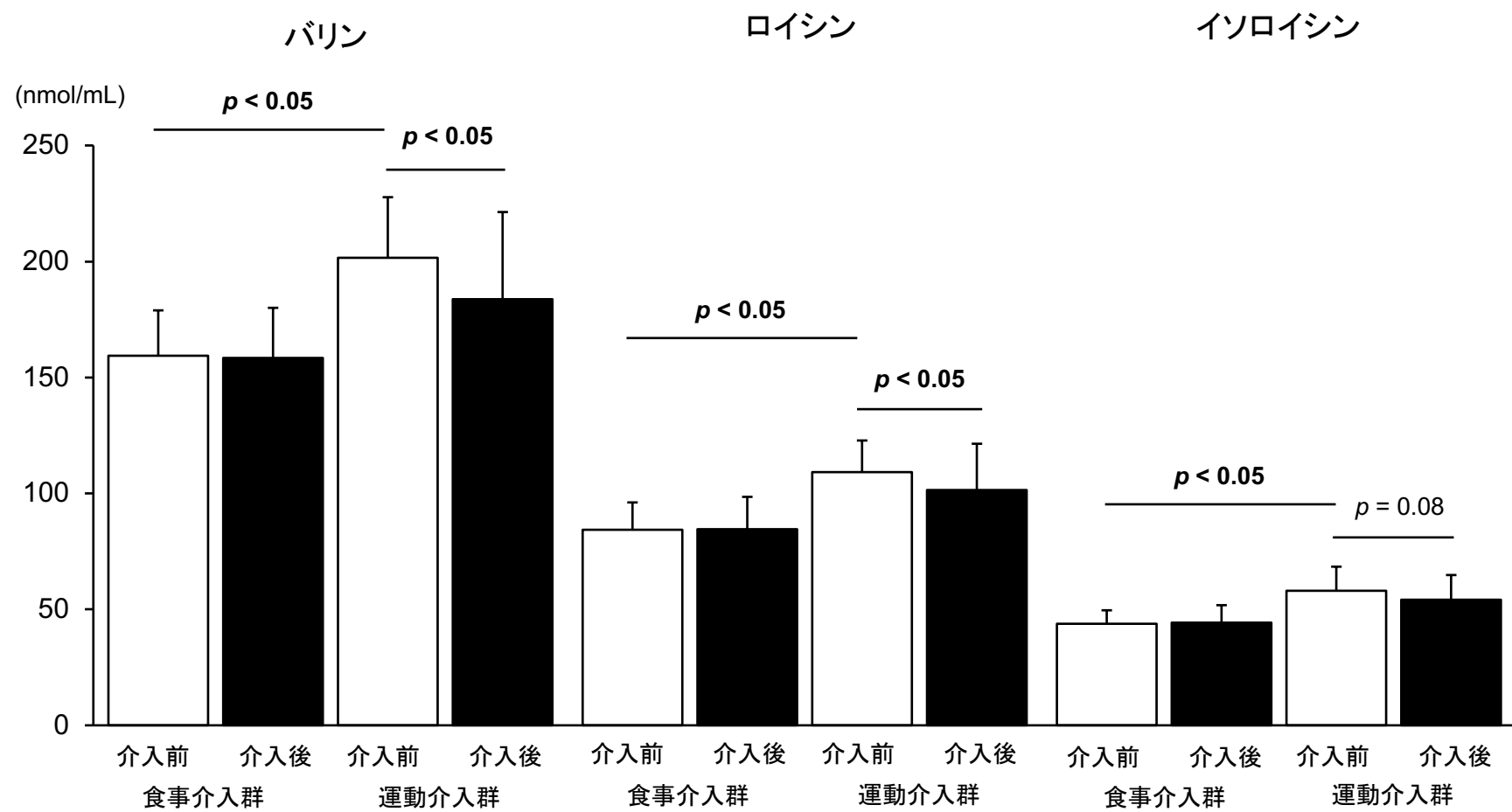


図 5-6. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における血中 BCAA 濃度. 平均値  $\pm$  標準偏差.

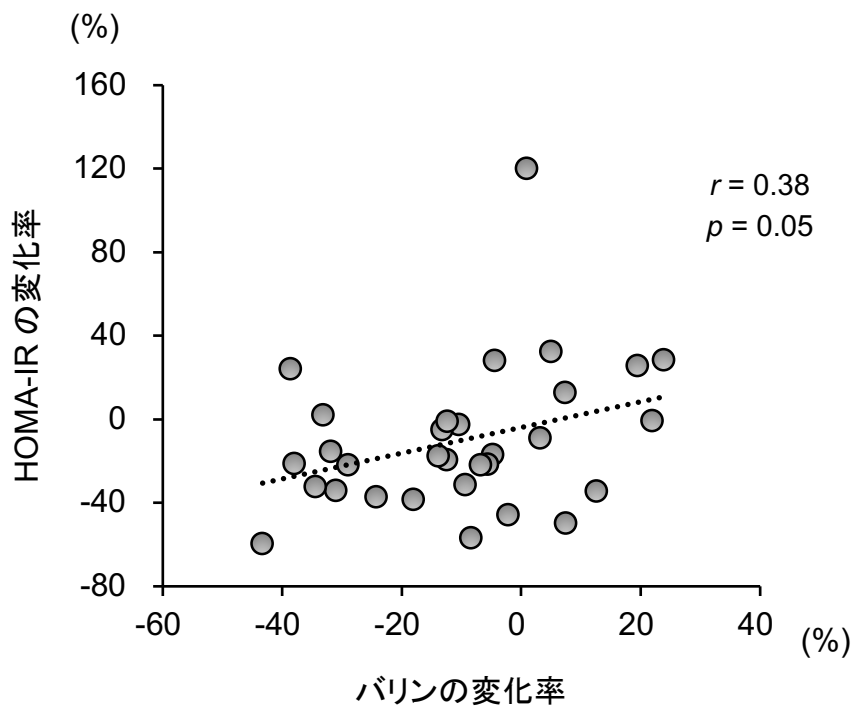
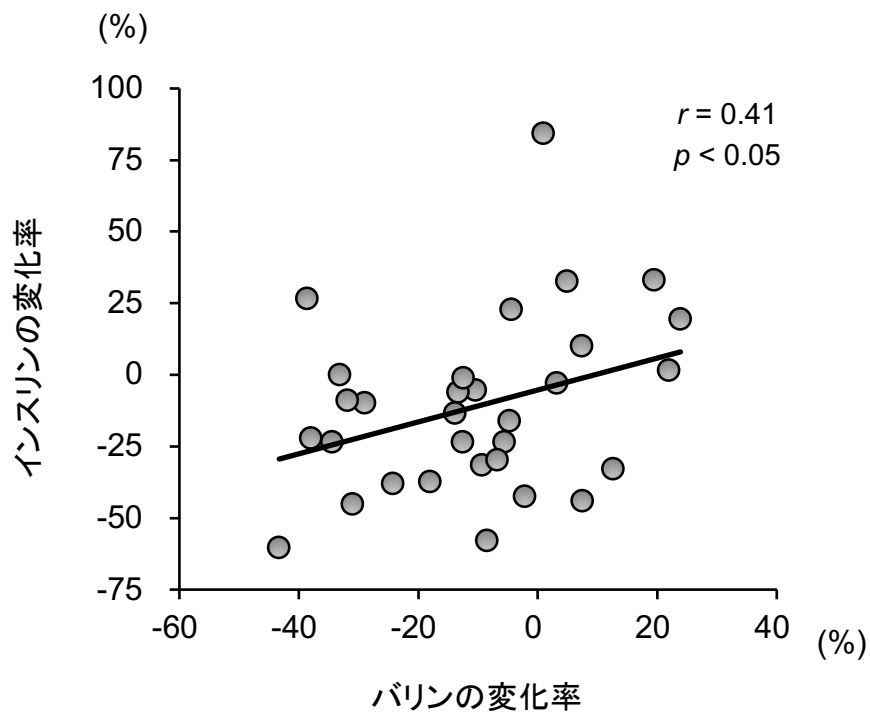


図 5-7. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後におけるインスリン, HOMA-IR と血中バリン濃度の変化量の関連性.

#### 5-4 考察

研究課題 2 では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善あるいは有酸素性運動の単独介入が血中 BCAA 濃度に及ぼす影響を比較検討した。その結果、食習慣改善介入では血中 BCAA 濃度のいずれも有意な変化は認められず、有酸素性運動介入ではバリン、ロイシンの血中濃度は有意に低下し、血中イソロイシン濃度にも低下傾向が認められた。研究課題 1 より、食習慣改善および有酸素性運動による生活習慣改善は、肥満者における血中 BCAA 濃度を低下することが明らかになったが、食習慣改善と有酸素性運動の両者を併用して実施したため、血中 BCAA 濃度を低下させるためにはどちらがより効果的であるかは明らかにできなかった。そこで食習慣改善あるいは有酸素性運動を単独で実施した本研究課題では、体重の変化は有酸素性運動介入よりも食習慣改善介入でより減少したが、血中 BCAA 濃度の低下には食習慣改善介入より有酸素性運動介入が効果的であることが示された。これらの結果は、有酸素性運動は体重の変化と独立して血中 BCAA 濃度が低下することを示唆している。

肥満者における食習慣改善と有酸素性運動による血中 BCAA 濃度の変化に違いが認められた原因の一つに筋が関与している可能性がある。多くのアミノ酸は肝臓が主要代謝部位であるが、BCAA の主要代謝部位は骨格筋である (下村ら, 2012)。先行研究では、肥満者における食習慣改善介入での減量は骨格筋量の減少を伴うが (Kim et al., 2017)、有酸素性運動介入では骨格筋量は介入後も維持されることが報告されている (Ross et al., 2004)。本研究においても、有酸素性運動と比較して、食習慣改善で除脂肪体重の減少が大きかった。また、食習慣改善では、インスリン抵抗性は有意に低下し、有酸素性運動ではインスリン抵抗性に低下傾向が認められた。このことから、両群においてインスリン抵抗性を原因とした BCAA 分解および体タンパク質分解は抑制された可能性が高く、介入前後で摂取エネルギーの変化がなかった有酸素性運動により、血中 BCAA 濃度が低下したと考えられる。一方で、食習慣改善においては、1 日の摂取エネ

ルギー量を 1 日 1680 kcal 以内にするよう指導し、実際に介入前と比較して平均約 860 kcal 減少している。その結果、摂取エネルギー不足により体内が飢餓状態になり、体タンパク質を分解することでエネルギー源を生成（糖新生）したことから、結果的に血中 BCAA 濃度に変化が認められなかったと考えられる。これらのことから、肥満男性における血中 BCAA 濃度の低下には、体タンパク質の分解が関与している可能性が示された。また、補助的データとして測定した糖原性アミノ酸のグリシン、セリンの血中濃度は、食事介入群で有意に増加し、運動介入群では変化が認められず、骨格筋分解を反映して血中濃度が上昇する 3M-ヒスチジンの血中濃度は、食事介入群で有意に増加し、運動介入群では変化が認められなかったことを確認している。これらの結果から、食習慣改善介入では、糖原性アミノ酸の利用は低下したものの、骨格筋分解が生じている可能性が示唆される。一方で、有酸素性運動介入では、体タンパク質分解を抑えながら減量することができる可能性がある。

これまで、定期的な有酸素性運動の単独介入が肥満者の血中アミノ酸濃度に与える影響は不明であった。本研究課題にて、初めて肥満男性における有酸素性運動により血中 BCAA 濃度は低下することを示した。Glynn et al. (2015) は、肥満男性における 6 ヶ月間の有酸素性運動およびレジスタンス運動の併用介入後に、バリン、ロイシン、イソロイシンの血中濃度が全て有意に変化しなかったことを報告している (Glynn et al., 2015)。Glynn et al. (2015) は、その理由として、有酸素性運動能力が有意に向上しなかったことを考察している。この先行研究では、有酸素性運動能力の指標として最高酸素摂取量を測定しているが、介入による有意な増加は認められていない。加えて、体重も有意な減少が認められていないことから、肥満者に対する減量を目的とした適切な有酸素性運動介入が実施できていなかった可能性が考えられる。一方、本研究課題では、最高酸素摂取量および歩数の有意な増加と、体重の有意な減少が介入後に認められたことから、有酸素性運動介入は適切に行われたと考えられる。先行研究にて、有酸素性運動



により、骨格筋における BCAA 代謝に関連する酵素の働きが活性化することが報告されている (Hatazawa et al., 2014)。骨格筋における BCAA 代謝の亢進は、骨格筋に対するエネルギー供給源としての BCAA 需要の増加や、骨格筋タンパク合成のための BCAA 需要の増加を意味することが示唆される。このことから、定期的な有酸素性運動後に肥満男性の血中 BCAA 濃度が低下したメカニズムには、骨格筋における BCAA 代謝の活性化も関係していた可能性が考えられる。

一方、これまでに、減量を目的とした食習慣改善が血中アミノ酸濃度に与える影響を検討した先行研究はいくつか報告されているが、介入期間や体重減少量の不一致により、一定の見解が得られていない。先行研究では、2 年という比較的長期間の食習慣改善による減量後に、糖尿病発症の予測因子である血中 BCAA 濃度は低下したことが報告されている (Zhang et al., 2016)。しかし、6 週間または 130 日間（約 19 週間）という比較的短期間の食習慣改善による減量では、血中 BCAA 濃度は低下しないことも報告されている (Felig et al., 1969; Vazquez et al., 1985)。これらのことから、本研究課題における食習慣改善の介入期間は、血中 BCAA 濃度の低下には短期間であった可能性が考えられる。一方で、Laferrère et al. (2011) は、 $\leq 1000$  kcal/日の低エネルギー食による 10 kg の減量達成後（約 4–8 週間後）に、血中 BCAA 濃度が低下したことを報告している (Laferrère et al., 2011)。さらに、Laferrère et al. (2011) は、低脂肪食を用いた食習慣改善と行動変容を併用した減量介入による 30 kg の減量達成後に血中 BCAA 濃度は有意に低下したことを報告している。本研究課題では、摂取エネルギー量を  $\leq 1680$  kcal/日に制限し、介入後に体重は 9 kg 減少したが、血中 BCAA 濃度は有意に変化しなかった。したがって、食習慣改善により、血中 BCAA 濃度を有意に低下させるためには、より厳しい摂取エネルギー制限や、行動変容介入が必要である可能性が考えられる。

有酸素性運動では、インスリン、HOMA-IR に低下傾向が認められたが、血糖値に有意な変化は認められなかった。その一方で、食習慣改善では、血糖、インスリン、

HOMA-IR のいずれにおいても、介入後有意に低下した。介入による糖代謝指標の変化は、血糖値、インスリン、インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR のいずれにおいても、有酸素性運動よりも食習慣改善で高い効果を示した。このことから、インスリン抵抗性改善のメカニズムは食習慣改善と有酸素性運動で異なることが示唆される。肥満男性における 12 週間の有酸素性運動により、血中バリニン濃度が有意に低下し、血中バリニン濃度の変化率はインスリン濃度 ( $r = 0.412, p < 0.05$ ) および HOMA-IR の変化率 ( $r = 0.38, p = 0.05$ ) と有意な関連性が認められた。これらの結果は、有酸素性運動による血中バリニン濃度の低下が有酸素性運動による糖代謝改善のメカニズムの 1 つであることを示唆する。一方、肥満者における 12 週間の食習慣改善はインスリン濃度と HOMA-IR を低下させるが、血中 BCAA 濃度は有意な変化が認められなかった。先行研究では、炎症性サイトカインの減少が HOMA-IR およびインスリン濃度の減少と関連していることが報告されていることから (Kumagai et al., 2018)、食習慣改善では炎症性サイトカインが重要な役割を果たす可能性がある。すなわち、本研究課題の結果は、血中 BCAA 濃度の低下は、食習慣改善による糖代謝の改善ではなく、有酸素性運動による糖代謝の改善のメカニズムの 1 つであることを示唆している。

本研究課題の限界点として、ベースライン時の血中 BCAA 濃度が食習慣改善と比較して有酸素性運動群において高いことが挙げられる。これらのベースラインの違いは、年齢やベースラインの体格の違いなどが影響している可能性が考えられるが、体格の影響を除外するために、年齢、身長により補正した場合においても、解析結果は変わらなかった。さらに、測定の前日に食事提供などによる管理はしなかった。これらの要因は、食習慣改善における対象者と有酸素性運動における対象者のベースラインの血中 BCAA 濃度の違いに影響を与える可能性がある。

## 5-5 まとめ

研究課題 2 において、肥満男性における 12 週間の食習慣改善では血中 BCAA 濃度は変化せず、12 週間の有酸素性運動では血中 BCAA 濃度が低下したことが明らかになった。さらに、有酸素性運動における血中バリン濃度の変化とインスリン、HOMA-IR の変化は関連する可能性が示された。

## 第 6 章 研究課題 3: 肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単

### 独介入が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響

#### 6-1 緒言

分岐鎖アミノ酸の一種であるバリンの分解（異化）経路の中間代謝物である 3-HIB は、バリンの分解によって生成され、その一部が血中に放出される。近年、この 3-HIB が脂肪酸の取り込みを促進することで筋肉脂肪を蓄積する作用を持ち、インスリン抵抗性の進展に寄与することが報告された (Jang et al., 2016)。すなわち、インスリン抵抗性に伴う体タンパク質分解によって、血中 3-HIB 濃度は上昇し、インスリン抵抗性を悪化させるため、さらなる代謝の悪循環を引き起こすことが明らかにされているため、代謝改善のためには血中 3-HIB 濃度を低下させることが重要である。先行研究では、標準体重者と比較して肥満者で、また、健常者と比較して糖尿病患者で血中 3-HIB 濃度は有意に高値を示すことが明らかにされている (Mardinoglu et al., 2018)。さらに、血中 3-HIB 濃度はインスリン抵抗性と関連することが明らかにされていることも示されている (Haufe et al., 2017)。このように、体タンパク質分解が生じている肥満者・糖尿病患者では血中 3-HIB 濃度が上昇していることから、肥満者における糖尿病を予防するには血中 3-HIB 濃度を低下させることが重要である。

研究課題 2 では、血中 BCAA 濃度の低下には、体タンパク質分解の少ない有酸素性運動が有効である可能性を示した。肥満男性における食習慣改善と有酸素性運動による介入が血中 BCAA 濃度に及ぼす影響に差異が認められた要因として、体タンパク質分解が関与している可能性が考えられるが、食習慣改善および有酸素性運動が体タンパク質分解に及ぼす影響は不明である。分岐鎖アミノ酸のバリンの中間代謝物である 3-HIB は体タンパク質分解が生じた結果、血中濃度が上昇すると考えられる。これらのことから、血中 3-HIB 濃度を評価することで食習慣改善および有酸素性運動が体タ

ンパク質代謝に与える影響を明らかにできる可能性があると考えた。

そこで、研究課題 3 では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入が血中 3-HIB 濃度に与える影響を検討することを目的とした。

## 6-2 方法

### 6-2-1 対象者

本研究課題では、筑波大学にて行われた食事教室と運動教室の参加者を対象とした。参加者は、自ら食事介入群または運動群を選択し、それぞれ 12 週間の食習慣改善と有酸素性運動を支援した。本研究では、肥満の定義を  $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$  とし（日本肥満学会肥満症診断基準検討委員会, 2011）、教室参加者の中から、介入前の時点で肥満に該当しなかった者、糖尿病に罹患していた者、血糖降下薬を服用していた者、介入期間中に研究参加を中途辞退した者、介入前または介入後の測定データに不備があった者を除外し、最終的に食事介入群は肥満男性 20 名、運動介入群は 21 名を解析対象とした。なお、本研究課題は筑波大学体育系研究倫理委員会の承認を得ており、すべての参加者に対して研究の目的と内容について説明し、研究に参加する同意を得て実施した。

### 6-2-2 介入方法

本研究課題では、食事介入群には 12 週間の食習慣改善、運動介入群には 12 週間の有酸素性運動をそれぞれ実施した。対象者は自身で介入群を選択した。

#### 食習慣改善

対象者は、筑波大学にて行われた 12 週間の食事教室に参加した。教室では、1 回 90 分間、週 1 回の集団指導を行った。指導内容としては、4 群点数法（香川, 2002）を用いて、1 食あたり 560 kcal、1 日あたり 1680 kcal 程度を目標に、バランスよく摂取

エネルギー量を制限するよう指導した。4群点数法を用いた食事は、毎食、第1群（牛乳・乳製品、卵）から1点（80 kcal）、第2群（魚介類、肉類、豆・豆製品）から2点（160 kcal）、第3群（野菜、芋類、きのこ・海藻、果物）から1点（80 kcal）、第4群（穀物、砂糖、油脂、その他の嗜好品）から3点（240 kcal）の範囲内で、3食の合計点数が21点（1680 kcal）以内になるよう、対象者自身が食品を選択して摂取するように指導した。介入期間中は、毎食の食事内容を食事日誌に記録させた。食事日誌を週に1度の集団指導の際に指導者が確認し、必要に応じて個別指導を行った。本研究における食事指導は、肥満男性を対象とした先行研究と同様の方法を採用した（Tanaka et al., 2004; Miyaki et al., 2009b）。

#### 定期的な有酸素性運動

対象者は、筑波大学にて行われた12週間の運動教室に参加した。教室は1回90分間、週に3回の頻度で実施した。運動内容は、教室の初めにウォーミングアップとしてストレッチングを10–15分間、次に主運動としてウォーキングやジョギングなどの有酸素性運動を40–60分間、最後に自重負荷運動およびストレッチングを20–30分間行った。教室における運動強度は、Borgスケールによる自覚的運動強度（RPE）の12–14あたり（中等強度）を意識して保つように指導した。また、参加日数の少ない者に関しては、積極的に自宅での運動を行うよう指導した。本研究における運動指導は、肥満男性を対象とした先行研究と同様の方法を採用した（Miyaki et al., 2009a; 笹井ら, 2008）。

#### **6-2-3 測定項目**

対象者には、形態指標、体組成、血圧の測定および採血の24時間前から激しい運動を避けるように、12時間前から水以外の飲食を控えるように指示した。これらの測定および採血は、室温を24–26℃に調節した静かな部屋で実施した。運動負荷試

験は、採血後に対象者が軽食を摂取してから約 30 分後に実施した。

#### 形態指標・体組成・内臓脂肪

身長は 0.1 cm 単位 (Digital height meter AD-6227; A&D 社製)、体重、骨格筋量は 0.1 kg 単位、体脂肪率は 0.1%単位 (InBody 770; InBody Japan 社製) で計測し、体重/身長<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>) として BMI を算出した。ウエスト周囲径は 0.1 cm 単位で、伸縮性のないメジャーを用いて臍位で測定した。腹部内臓脂肪面積は、1 cm<sup>2</sup> 単位であるインピーダンス法 (DUALSCAN HDS-200; Omron Healthcare 社製) により、仰臥位、臍位で測定した。

#### 血液生化学データ

熟練した看護師が、肘正中皮静脈から採血を行った。採血後、血液を 4°C、3000 rpm で 15 分間遠心分離した。血漿サンプルを用いて、空腹時血糖を測定した。血清サンプルを用いて、空腹時インスリン、HDL コレステロール、LDL コレステロール、中性脂肪を測定した。

#### 血中 3-HIB 濃度

採取した血液を用いて、内部標準として安定同位体 (<sup>13</sup>C<sub>4</sub> 3-hydroxybutyrate, acetyl-L-[<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]carnitine, [<sup>2</sup>H<sub>3</sub>]-lactate, acetyl-[<sup>2</sup>H<sub>4</sub>]taurine) を含有した 100 μL の 95%アセトニトリル溶液に混和、遠心分離して、除タンパクを行なった。除タンパクしたサンプルを 55°C、窒素下にて蒸発乾固した。蒸発乾固後、2-ピリジンメタノールに混和して誘導体化反応を行い、ジエチルエーテルにて抽出、再蒸発乾固した。蒸発乾固したサンプルは、1%ギ酸水にて再溶解した後、LC-MS/MS 装置にインジェクションし、標準液にて作成した検量線を用いて定量した (Miyazaki et al., 2015)。

## 糖代謝指標

介入前後において、75 g グルコース溶液を用いた経口耐糖能試験（OGTT）を実施し糖代謝指標の測定を行なった。糖代謝指標の測定は、運動の急性効果を除外するために最後の運動実施から 3 日以上開けて測定を実施した（King et al., 1995）。グルコース負荷後、空腹時（0 分）、60 分、および 120 分で採血し、グルコース、HbA1c およびインスリンを評価した。インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR は、次の式により求めた。

$$HOMA-IR = \text{空腹時グルコース (mg/dL)} \times \text{空腹時インスリン (\mu U/mL)} / 405$$

全身のインスリン感受性指数（ISI comp）は、次の式により求めた（DeFronzo et al., 1988; Matsuda et al., 1999）。

$$(ISI \text{ comp}) = 10000 / \sqrt{\{G0 \times I0 \times (G0 + G60 \times 2 + G120) / 4 \times (I0 + I60 \times 2 + I120) / 4\}}$$

G0、G60、および G120 は、それぞれ 0 分、60 分、および 120 分での血漿グルコース濃度（mg/dL）を表し、I0、I60、および I120 は、それぞれ 0 分、60 分、および 120 分での血清インスリン濃度（μU/mL）を表す。

## 摂取エネルギー量

摂取エネルギー量は介入前と介入後において、食物摂取頻度調査票 新 FFQg（food frequency questionnaire based on food groups）Ver.5 をもとにエクセル栄養君 Ver.8（建白社製）により算出した。調査票は、食品群別に分けられた 29 の食品グループと 10 種類の調理法から構成され、1 週間を単位に、食物摂取量（少し・普通・たっぷり）と摂取頻度から、習慣的な食物摂取量および栄養素摂取量を推定する。摂取エネルギー量の計算には、結果及び評価においては、「日本食品標準成分表 2015 年版（七訂）」、「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」に準拠した。質問票の記入にあたり、不明点および不十分な点は管理栄養士が個別に聞き取り記入補助を行った（Takahashi et al., 2001）。



### 最高酸素摂取量

自転車エルゴメータ（232CXL: COMBIWELNESS 社製）を用いて運動負荷試験を実施した。ペダルの回転数を 60 rpm に維持させ、20W の負荷で 2 分間のウォーミングアップを行わせた後、毎分 15W ずつ段階的にトルクを高める多段階漸増負荷法により、主観的限界に至るまで運動させた。主観的限界の基準は (1) 心拍数が推定最大心拍数（220-年齢）に達したとき、(2) Borg スケールによる主観的疲労度が 19 を超えたとき、(3) 呼吸交換比が 1.2 を超えたとき、(4) ペダル回転数が 55 rpm 未満に達したときのいずれかふたつを満たしたポイントとした。最高酸素摂取量は、自動呼気ガス分析機（AE300S; Minato Medical Science）を用いて、主観的限界に至る直前の 30 秒間の平均値を採用した（Park et al., 2019）。

### 歩数・身体活動量

活動量計（Active style Pro HJA-750IT; Omron 社製）を用いて、歩数・身体活動量を計測した（Ohkawara et al., 2011; Oshima et al., 2010）。被験者には、活動量計を起床から就寝まで、水中活動（入浴、水泳）および接触のあるスポーツ活動時を除き、腰部に常時装着するよう指示した（Mâsse et al., 2005）。活動量計の装着時間が 10 時間/日に満たないデータは除外し（Toriano et al., 2008）、教室開始前 1-2 週間の平均値を介入前、教室期間中の平均値を介入後の値とした。身体活動時間は、1.6-2.9 METs を低強度、3.0-5.9 METs を中等強度、6.0 METs 以上を高強度と定義して分類した。1 日の平均値は、下記の式により平日（月曜-金曜）と休日（土曜-日曜）を適切に重み付けした値を採用した（辻本ら, 2014）。

$$1 \text{ 日の平均値} = (\text{平日の平均値} \times 5 + \text{休日の平均値} \times 2) \div 7$$

#### 6-2-4 統計処理

Shapiro–Wilk 検定によって、介入前および介入後の変数が正規分布しているかを確認した。正規性を確認できた変数は、対応のある  $t$  検定によって介入効果を検討した。正規性を確認できなかった変数は、Wilcoxon の符号順位検定によって介入効果を検討した。各変数間の関連性は、正規性を確認できた変数は Pearson の相関係数、正規性を確認できなかった変数は Spearman の順位相関係数を用いて検討した。Two-way repeated ANOVA にて、時間の主効果、群間差、交互作用の影響を検討した。介入前のデータのための群間比較は、対応のない  $t$  検定にて検討した。データは、「平均値  $\pm$  標準偏差」で示した。すべての統計処理では、IBM SPSS statistics 25.0 for Mac (IBM 社製) を用い、危険率 5 %未満 (両側) を統計学的に有意と見なした。

### 6-3 結果

図 6-1 に、介入前後における摂取エネルギー量、図 6-2 に、介入前後における最高酸素摂取量、表 6-1 に介入前後における身体特性を示す。食事介入群では、摂取エネルギー量 ( $-1237 \pm 1017$  kcal/日,  $p < 0.01$ ) (図 6-1)、タンパク質摂取量 ( $-25 \pm 29$  g/日,  $p < 0.01$ )、脂質摂取量 ( $-22 \pm 33$  g/日,  $p < 0.01$ )、炭水化物摂取量 ( $-204 \pm 155$  g/日,  $p < 0.01$ ) のいずれも介入後に有意に減少した (表 6-1)。すなわち、肥満男性における食習慣改善は適切に行われたことが示唆される。運動介入群では、タンパク質摂取量のみ介入後に有意に変化した ( $-2 \pm 17$  g/日,  $p < 0.01$ ) が、摂取エネルギー量、脂質摂取量、炭水化物摂取量は有意な変化は認められなかった (表 6-1)。また、最高酸素摂取量 ( $+3.7 \pm 4.0$  mL/kg/分,  $p < 0.01$ ) (図 6-2)、中高強度身体活動時間 ( $+18 \pm 17$  分/日,  $p < 0.01$ )、歩数 ( $+2017 \pm 2569$  歩/日,  $p < 0.01$ )、は介入後有意に増加し、不活動時間 ( $-63 \pm 97$  分/日,  $p < 0.01$ ) および低強度身体活動時間は介入後有意に低下した ( $-24 \pm 51$  分/日,  $p < 0.05$ ) (表 6-1)。すなわち、肥満男性における有酸素性運動は適切に行われたことが示唆される。

図 6-3 に介入前後の体重の変化、図 6-4 に介入前後の除脂肪体重、骨格筋量の変化を示す。介入後、両群ともに体重は有意に減少し、介入による体重の変化には有意な交互作用が認められた ( $p < 0.01$ )。一方で、除脂肪体重、骨格筋量は食事介入群のみで有意な減少が認められ ( $p < 0.01$ )、運動介入群では有意な変化は認められなかった。骨格筋率も同様の結果であった。BMI (食事介入:  $-6.1 \pm 3.9$  kg/m<sup>2</sup>; 運動介入:  $-0.7 \pm 0.7$  kg/m<sup>2</sup>,  $p < 0.01$ )、ウエスト周囲径 (食事介入:  $-6.9 \pm 3.0$  cm; 運動介入:  $-3.3 \pm 2.5$  cm,  $p < 0.01$ )、HbA1c (食事介入:  $-0.6 \pm 0.3$  %; 運動介入:  $-0.4 \pm 0.2$  %,  $p < 0.01$ ) も体重と同様に、両群ともに有意に減少したが、介入による体重の変化には有意な交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。体脂肪率は両群ともに減少し、交互作用は認められなかった。中性脂肪は運動介入群でのみ有意に低下し、血糖は食事介入群でのみ有意に低下した。

図 6-5 に、介入前後の血中 3-HIB 濃度の変化を示す。介入後、食事介入群では有意な変化は認められず、運動介入群では血中 3-HIB 濃度が有意に低下し( $p < 0.05$ )、両群間に交互作用が認められた ( $p < 0.05$ )。

有酸素性運動による血中 3-HIB 濃度の変化に関連した因子を調査するため、有酸素性運動介入群でのみ各因子との関連性を検討した。その結果、血中 3-HIB 濃度の変化量と各因子の変化量との間に有意な関連性は認められなかった。

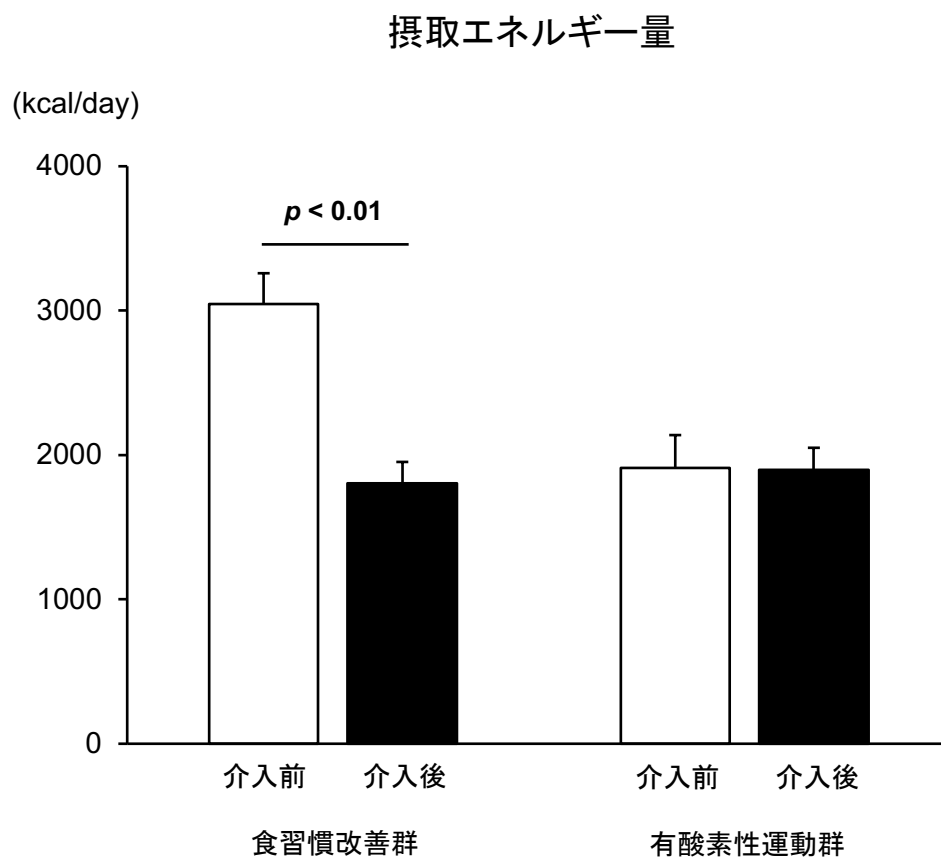
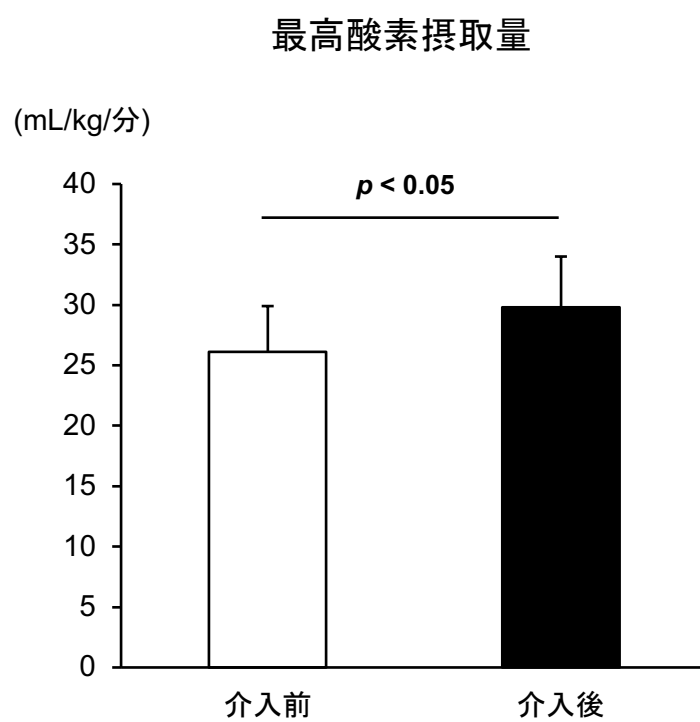


図 6-1. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における摂取エネルギー量. 平均値 ± 標準偏差.



**図 6-2.** 12 週間の有酸素性運動介入前後における最高酸素摂取量. 平均値 ± 標準偏差.

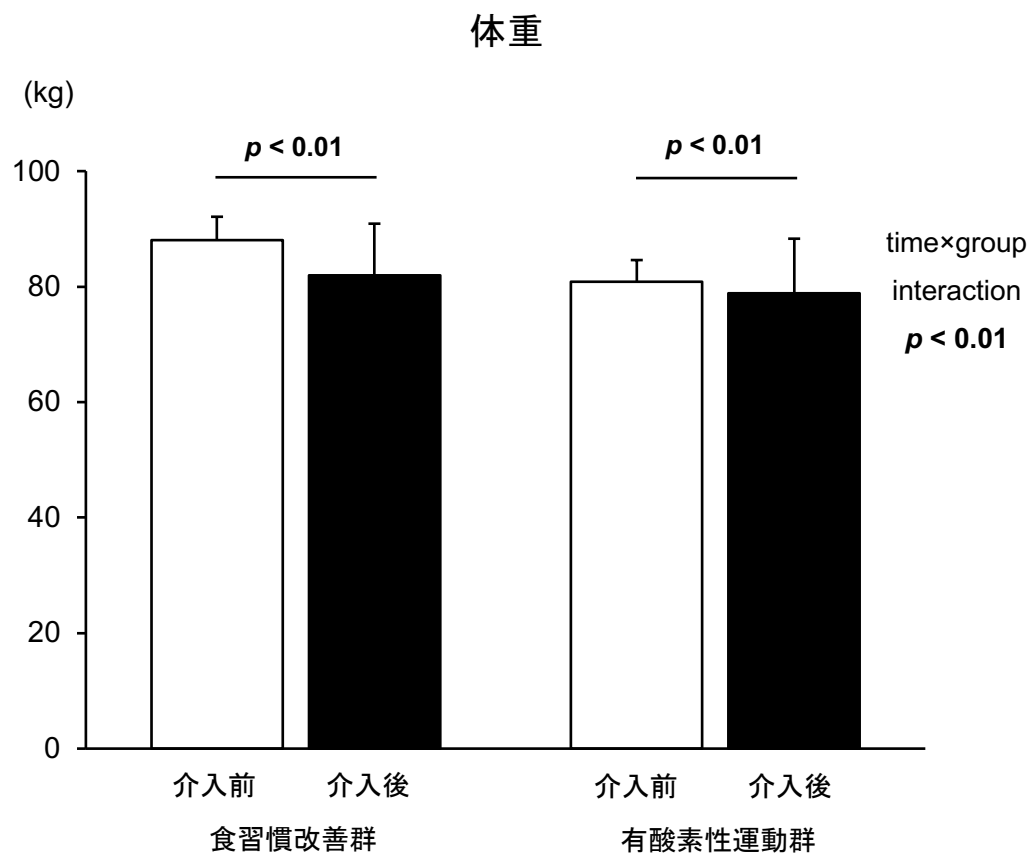
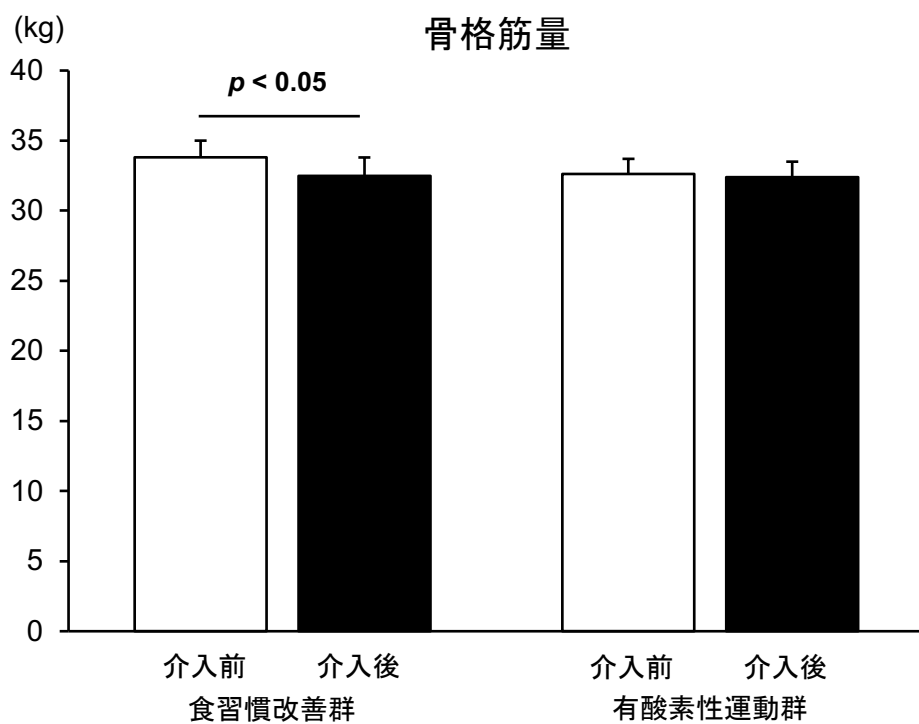
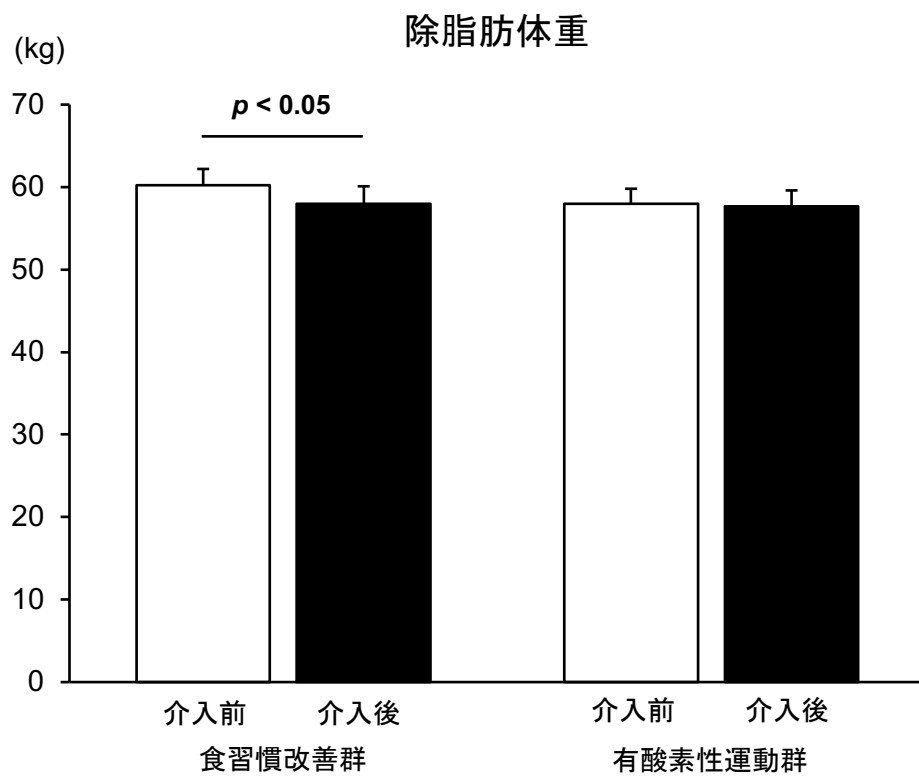


図 6-3. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における体重. 平均値 ± 標準偏差.



**図 6-4.** 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における除脂肪体重および骨格筋量. 平均値 ± 標準偏差.



表 6-1. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における身体特性.

	食事介入		運動介入		交互作用 (p)
	介入前	介入後	介入前	介入後	
BMI, kg/m <sup>2</sup>	29.6 ± 5.9	27.7 ± 5.6*	27.7 ± 2.4	27.0 ± 2.6*	<b>&lt;0.01</b>
体脂肪率, %	30.4 ± 6.7	27.8 ± 7.2*	28.2 ± 4.4	26.7 ± 4.0*	0.52
ウエスト周囲径, cm	103 ± 17	96 ± 15*	96 ± 15	93 ± 7*	<b>&lt;0.01</b>
HDL コレステロール, mg/dL	50 ± 9	47 ± 9*	53 ± 9	54 ± 10 <sup>+</sup>	0.05
LDL コレステロール, mg/dL	121 ± 21	109 ± 18*	130 ± 30	130 ± 30 <sup>+</sup>	<b>&lt;0.01</b>
中性脂肪, mg/dL	116 ± 48	94 ± 36	135 ± 91	105 ± 44*	0.64
血糖, mg/dL	103 ± 10	100 ± 9	104 ± 15	101 ± 9*	0.97
インスリン <sup>§</sup> , µU/mL	13.6 ± 8.7	9.4 ± 5.6*	9.1 ± 6.8	8.6 ± 4.1	<b>0.04</b>
HOMA-IR <sup>§</sup> , U	3.3 ± 2.5	2.2 ± 1.4*	2.5 ± 2.4	2.1 ± 1.1	0.23
(ISI comp) <sup>§</sup> , U	3.7 ± 2.6	4.3 ± 2.1	4.0 ± 2.3	4.0 ± 1.6	0.34
HbA1c, %	5.8 ± 0.5	5.2 ± 0.4*	5.7 ± 0.6	5.3 ± 0.5*	<b>&lt;0.05</b>
炭水化物摂取量, g/日	428 ± 201	225 ± 78*	248 ± 36 <sup>+</sup>	242 ± 19	<b>&lt;0.01</b>
脂質摂取量, g/日	85 ± 31	63 ± 25*	62 ± 6 <sup>+</sup>	64 ± 7	<b>0.02</b>
タンパク質摂取量, g/日	95 ± 32	70 ± 22*	63 ± 6 <sup>+</sup>	63 ± 5	<b>&lt;0.01</b>
不活動時間, 分/日	-	-	608 ± 123	545 ± 108*	-
低強度活動時間, 分/日	-	-	301 ± 86	277 ± 81*	-
中高強度活動時間, 分/日	-	-	58 ± 44	76 ± 36*	-
歩数, 歩数/日	-	-	8229 ± 4478	10246 ± 3130*	-

平均値 ± 標準偏差. <sup>§</sup>n = 11. \*p < 0.05 vs. 介入前, <sup>+</sup>p < 0.05, vs. 群間同ポイント.

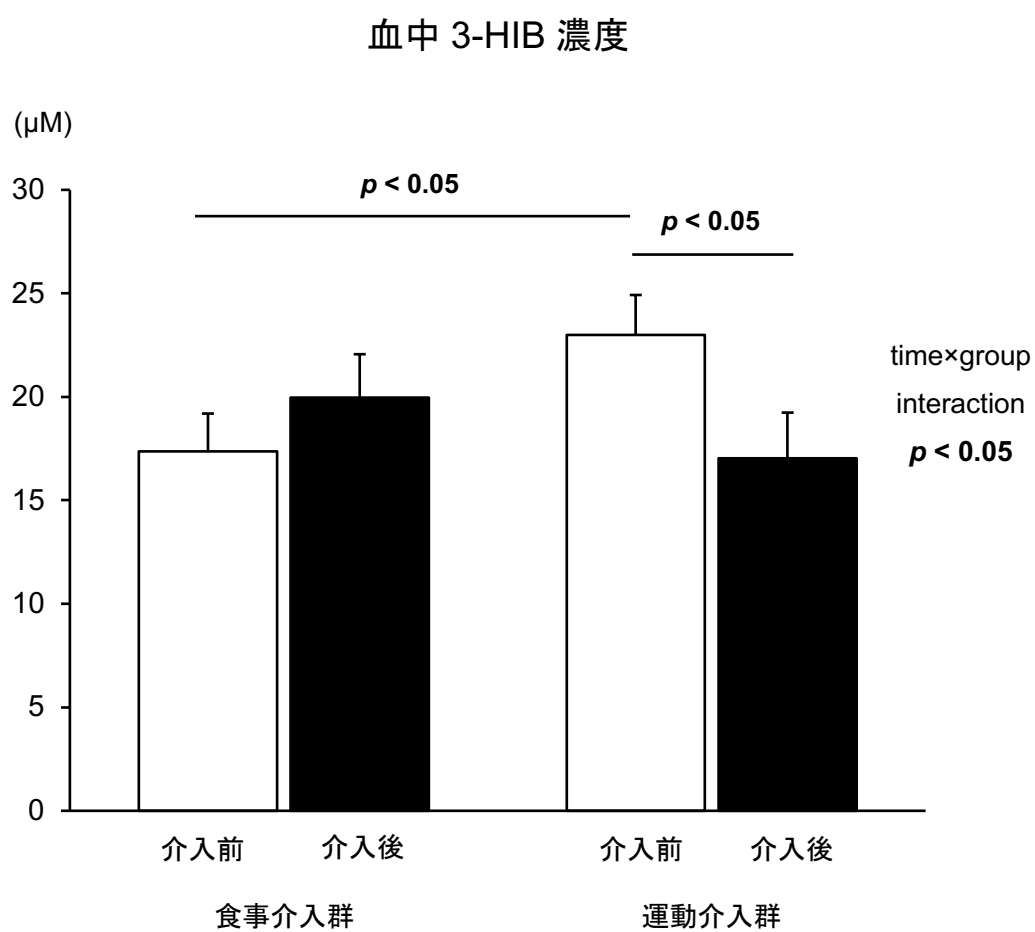


図 6-5. 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入前後における血中 3-HIB 濃度. 平均値  $\pm$  標準偏差.

#### 6-4 考察

研究課題 3 では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善あるいは有酸素性運動の単独介入が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響を検討し、食習慣改善と有酸素性運動の効果を比較した。介入後、体重は両群ともに有意に低下し、その変化には交互作用が認められた。介入後の除脂肪体重および骨格筋量は食習慣改善で有意に低下し、有酸素性運動では変化は認められなかった。また、食習慣改善では血中 3-HIB 濃度に有意な変化は認められず、有酸素性運動では血中 3-HIB 濃度は有意に低下することが示された。

インスリン抵抗性では、骨格筋における糖取り込み能が低下していることから、糖をエネルギー源として利用することができない。そのため、体タンパク質を分解し血中アミノ酸濃度を上昇させることで、糖の代替エネルギーとしてアミノ酸が生成され、糖新生に利用される (She et al., 2007)。3-HIB はこの代謝プロセスを通じてバリニンから生成される。さらに、3-HIB は筋内脂肪を蓄積する作用を持ち、インスリン抵抗性を促進することから、血中 3-HIB 濃度の上昇は、さらなる代謝の悪循環を引き起こすことが報告されている (Jang et al., 2016)。すなわち、肥満者において血中 3-HIB 濃度が上昇している原因は、インスリン抵抗性による体タンパク質分解を反映していると示唆される。本研究は、肥満男性における 12 週間の食習慣改善により血中 3-HIB 濃度は有意に低下せず、12 週間の有酸素性運動により血中 3-HIB 濃度が有意に減少することを示した。また、除脂肪体重および骨格筋量は、食習慣改善では介入後有意に低下し、有酸素性運動では介入後に有意な変化は認められなかった。しかし、糖代謝指標は両群ともに有意に改善している。したがって、両群ともに糖代謝障害やインスリン抵抗性は有意な改善が認められた。以上のことから、血中 3-HIB 濃度の変化に群間差が認められた要因の一つに、食習慣改善による摂取エネルギー不足により体タンパク質が分解されたことが関与していると考えられる。この結果は、食習慣改善による減量では、エネルギー制限により体タンパク質が分解され、筋量が減少してしまう一方で、有酸素性運動による減量

では、体タンパク質分解が生じず、筋量を維持したまま減量できることを示している。

インスリン抵抗性により血中濃度が上昇した 3-HIB がさらにインスリン抵抗性を増大させる要因として、3-HIB が脂肪酸の取り込みを促進することで筋内脂肪を蓄積する作用を持つためと報告されている (Jang et al., 2016)。また筋内脂肪の過度な蓄積はインスリン抵抗性を引き起こすことが示されている (Liu et al., 2007)。このことから、血中 3-HIB 濃度の上昇は、インスリン抵抗性発症と関連していると報告されている。本研究課題の有酸素性運動において、介入後、血中 3-HIB 濃度は有意に低下したが、インスリン感受性/抵抗性は有意に改善しなかった。このことから、血中 3-HIB 濃度の減少による筋内脂肪蓄積の低下がもたらすインスリン抵抗性の改善には個人差が存在する可能性があると考えられる。先行研究において、筋内脂肪蓄積の原因である高脂肪食負荷による筋内脂肪のつきやすさには個人差があり、筋内脂肪が多くても必ずしもインスリン抵抗性を発症する訳ではない、ということも報告されている (Sakurai et al., 2011)。また、先行研究において、糖尿病における運動療法は主に骨格筋におけるインスリン抵抗性を改善させることが報告されている (田村ら, 2006)。本研究において経口糖負荷試験により測定したインスリン抵抗性は、全身のインスリン抵抗性を反映した指標であり、骨格筋におけるインスリン抵抗性の改善を反映できなかった可能性がある。さらに、先行研究により、全身糖取り込みの低下は、解糖系の酵素の低下、それに続く糖酸化、グリコーゲン合成の抑制が理由であることが示されている (Samuel et al., 2010)。すなわち、インスリン抵抗性そのものよりも糖質の利用能の低下がタンパク質分解のトリガーであると考えられるため、インスリン抵抗性は改善しなかったものの、糖代謝障害は改善したため、介入前と比較して介入後はタンパク分解量が低下したことが血中 3-HIB 濃度の低下につながったと考えられる。このことから、より長期的な有酸素性運動介入や食習慣改善との併用により、血中 3-HIB 濃度が有意に低下し、インスリン作用も有意に改善する可能性がある。

血中 3-HIB 濃度は、標準体重者や正常耐糖能の者と比較して、肥満および糖尿病患者で高値を示すことが明らかにされている。減量が血中 3-HIB 濃度に及ぼす影響を検討した研究は、食事による減量の効果を見た研究 1 報しか報告されていない。この先行研究では、減量を目的とした 6 ヶ月間の食事介入は、成人肥満者の血中 3-HIB 濃度は有意に低下しないことを報告している (Haufe et al., 2017)。本研究課題における食習慣改善介入でも先行研究の結果を支持する成果が得られた。食習慣改善におけるエネルギー制限は、特に下肢の骨格筋量を減少させることが報告されている (Ross et al., 2004)。これは、エネルギー不足を補うために体タンパク質が分解されることを示唆している。さらに低摂取エネルギーによる減量では、減量効果は高い一方で、体タンパク質の分解により、最終的に血中 3-HIB 濃度が上昇する可能性も考えられる。したがって、体タンパク質の分解は血中 3-HIB 濃度を上昇させることで、食習慣改善によりインスリン抵抗性を改善する効果を損なう可能性が示唆される。一方、12 週間の有酸素性運動介入は、体重を減少させたにもかかわらず骨格筋量は減少しなかった。この結果は、有酸素性運動による血中 3-HIB 濃度の低下に貢献した可能性がある。すなわち、アミノ酸に着目すると、減量を目的とした生活習慣改善介入では、骨格筋量を維持することが不可欠であることを示唆している。

研究課題 3 における限界点として、ベースライン時の血中 3-HIB 濃度が食習慣改善と比較して有酸素性運動において高いことが挙げられる。介入前の測定において、食事提供などの食事の統一はしていない。このことは、食習慣改善における対象者と有酸素性運動における対象者のベースラインの血中 3-HIB 濃度の違いに影響を与える可能性がある。

## 6-5 まとめ

研究課題 3 において、肥満男性における 12 週間の食習慣改善では、血中 3-HIB 濃度は有意に変化せず、12 週間の有酸素性運動では血中 3-HIB 濃度が有意に低下することを明らかにした。したがって、肥満男性における血中 3-HIB 濃度の低下には、有酸素性運動が有効であることが示された。

## 第7章 総合討論

肥満は生活習慣病の危険因子であり (公衆衛生審議会, 2011)、多くの重篤な疾患の基礎になることが報告されている。したがって、肥満の原因となる生活習慣 (過食、運動不足) を是正することは重要である (日本肥満学会, 2016)。体重の減少を目的とした場合、有酸素性運動による減量よりもエネルギー収支のマイナスが大きい食習慣改善が減量方法の第一選択となる (日本肥満学会, 2016)。しかしながら、筋量に着目すると、食習慣改善では摂取エネルギー制限により体タンパク質が分解され、筋量が減少する (Kim et al., 2017)。一方で、有酸素性運動では筋量の減少を伴わずに減量できることが報告されている (Ross et al., 2004)。特に骨格筋は、糖代謝やタンパク質代謝に重要な役割を果たす臓器であることから、肥満者において、根本的な代謝異常状態の改善には、体タンパク分解の抑制すなわち筋量を維持した減量が重要である。体タンパク質はアミノ酸によって構成されており、ヒトのアミノ酸濃度は一定に保たれている (安藤, 2007)。しかしながら、代謝機能が悪化している肥満者では、標準体重者と比較して血中アミノ酸濃度が変動していることが明らかにされている (Badoud et al., 2014; Newgard et al., 2009; Xie et al., 2014)。特に、肥満者における血中 BCAA 濃度の上昇は、将来の糖尿病発症の独立した予測因子であることが報告されている (Wang et al., 2011)。さらに、バリンの中間代謝物である 3-HIB は、体タンパク質分解経路が亢進するインスリン抵抗性を反映して血中で高値を示すこと、さらに、3-HIB 自体がインスリン抵抗性の進展に関与する骨格筋内への脂肪酸取り込みを促進する作用を持つことも明らかにされている (Jang et al., 2016)。すなわち、血中 BCAA 濃度および血中 3-HIB 濃度の上昇は、体タンパク質分解を反映していること、さらに血中 3-HIB 濃度の上昇はインスリン抵抗性と関連していると考えられる。しかしながら、これまでに肥満解消や代謝異常改善効果が報告されている食習慣改善および有酸素性運動による減量が肥満者の血中アミノ酸に及ぼす影響は一定の見解が得られておらず、さらに、食習慣改善と有酸素性運動のどちら

らが血中アミノ酸の変動に対して貢献度が高いかは全く不明であった。本研究では、肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動の併用介入、またはそれぞれの単独介入が血中アミノ酸に及ぼす影響を検討することを目的とした。

研究課題 1 では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の併用介入が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響について検討した。その結果、バリン、ロイシン、イソロイシンを含む 9 種のアミノ酸の血中濃度が有意に低下し、6 種のアミノ酸の血中濃度が有意に増加することが明らかになった。すなわち、介入効果の高い生活習慣改善介入は、外科的手術と同等に血中アミノ酸濃度を変化させる可能性が示された。しかしながら、食習慣改善と有酸素性運動のどちらが強く影響しているかは不明であったため、研究課題 2 では、食習慣改善と有酸素性運動の単独介入が体タンパク質分解に関与する血中 BCAA 濃度に与える影響を検討した。その結果、食習慣改善では血中 BCAA 濃度の有意な低下が認められなかったが、有酸素性運動では血中 BCAA 濃度が有意に低下した。このことから、血中アミノ酸濃度の変化には、食習慣改善と比較して有酸素性運動の影響が大きいことが示された。この食習慣改善と有酸素性運動が血中 BCAA 濃度に与える影響に違いが生じた原因として体タンパク質分解が影響している可能性が考えられる。研究課題 3 では、肥満男性における 12 週間の食習慣改善および有酸素性運動の単独介入が体タンパク質分解を反映する血中 3-HIB 濃度に与える影響について検討した。その結果、食事介入では血中 3-HIB 濃度に有意な変化は認められず、運動介入では血中 3-HIB 濃度が有意に低下した。

食習慣改善では、インスリン抵抗性が改善し、インスリン抵抗性由来の BCAA の組織内への取り込みが促進された一方で、摂取エネルギー量を制限したことにより、必要エネルギー量が不足し、エネルギーを補填するために体タンパク質を分解し、遊離アミノ酸濃度が上昇した。その結果、血中 BCAA 濃度に有意な変化が認められなかった可能性が考えられる。また、インスリン抵抗性は改善したものの、体タンパク質分解



を抑制できなかったため、血中 3-HIB 濃度も変化しなかったと考えられる。これらのことから、食習慣改善では、摂取エネルギー制限による体タンパク質分解が体タンパク質合成を上回っている可能性がある。すなわち、本研究では、肥満者における食習慣改善のみでの減量では、血中 BCAA 濃度および血中 3-HIB 濃度は変化しないことが示された。

一方で、有酸素性運動では、インスリン機能の改善により、BCAA の組織内への取り込みが促進したことや食習慣改善のように摂取エネルギー量を制限しなかったことで血中 BCAA 濃度が低下したと考えられる。さらに、有酸素性運動は BCAA の代謝酵素を活性化することも明らかにされていることから (Hatazawa et al., 2014)、骨格筋における BCAA 代謝がさらに改善し、TCA 回路における利用が増加したことも血中 BCAA 濃度の低下につながったと考えられる。また、体タンパク質分解のトリガーである耐糖能が低下したため、体タンパク質分解が抑制されたことも血中 3-HIB 濃度の低下に寄与した可能性がある。すなわち、有酸素性運動による耐糖能およびインスリン抵抗性の改善により、血中 BCAA 濃度および血中 3-HIB 濃度が低下したと考えられる。この結果から、肥満男性における定期的な有酸素性運動がインスリン抵抗性を改善するメカニズムの一部に、血中アミノ酸が関与している可能性がある。

BMI  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> の肥満者においては、第一に減量が推奨される。減量のためには、食事療法が効果的とされており、本博士論文においても、同一期間での食習慣改善が約 6-9 kg の減量を達成した一方で、有酸素性運動は約 2-3 kg の減量達成に留まっている。これまでに多くの先行研究で食習慣改善、有酸素性運動のいずれにおいても、様々な健康指標の改善が報告されているが、体重の減少においては食習慣改善が効果的であることが示されている (Maeda et al., 2015; 膳法ら, 2014)。減量効果が高いため、減量後の健康指標の改善も大きく、本博士論文においても、一般血液生化学データをみると、有酸素性運動と比較して食習慣改善の方がより多くの指標が改善していた。一方で、食

習慣改善のデメリットとして、体重減少に伴う筋量の減少があげられる。筋量の減少は、筋力の低下や身体能力の低下につながる。四肢骨格筋量（ALM/身長）の低下を必須とし、身体機能（歩行速度）または筋力（握力）の低下がある場合にはサルコペニアと診断される（日本肥満学会, 2016）。サルコペニアは、特に高齢者において増加する病態であり、ふらつきや転倒、さらには加齢により心身が老い衰えた状態であるフレイルに密接に関連する（日本肥満学会, 2016）。肥満者は一般的に標準体重者と比較して、骨格筋量は多いとされる。これは自身の体格を支えるための適応と考えられている。減量が成功しても骨格筋量が低下してしまうと、サルコペニアやのちのフレイルのリスクが増えるため、健康効果が相殺されてしまう。さらに、骨格筋量の低下により活動性が低下し、リバウンドのリスクも上昇する。本博士論文においても、肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動が血中アミノ酸に与える影響を検討することで、減量効果の高い食習慣改善では体タンパク質分解が生じていたが、有酸素性運動では体タンパク質分解が生じていない可能性が示された。したがって、運動を伴わない食習慣改善のみでは減量効果は高いものの、血中アミノ酸には好影響は与えにくく、体タンパク質の分解による骨格筋量の低下を導いてしまう可能性がある。生活習慣改善により血中アミノ酸濃度を改善するためには、有酸素性運動が必須であり、食習慣改善と有酸素性運動の両者を併用して減量を目指すことが重要であるかもしれない。

本博士論文における限界点は次の通りである。第一に、全ての研究課題では、介入を実施しない対照群を設定せず、前後比較および介入群同士の比較試験を採用した。したがって、各介入前後で認められた差が、介入そのものによってもたらされたと言い切ることはできない。さらに、自身で介入群を選択したため、介入群の選択バイアスも関与している可能性も考えられる。また、研究課題 2、および研究課題 3 における群間でベースライン特性に偏りがあるため、各介入が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響を厳密に比較することは困難である。第二に、本博士論文の各研究課題の対象者は、25–64 歳

の肥満男性とした。代謝機能に影響を与える可能性がある性周期の観点および、我が国における肥満割合の観点から、男性の対象者のみで実験を行った。したがって、若年および高齢の肥満男性、または肥満女性においても同様の結果が得られるかを検討する必要がある。また、地域の新聞広告で研究参加者を募集したため、対象者の選択バイアスが存在するかもしれない。さらに、今回の被験者は血中アミノ酸濃度の基準範囲内 (Yamamoto et al., 2015) から逸脱した者はいなかったことから、比較的健康な対象者であったと考えられる。血中アミノ酸濃度および血中 3-HIB 濃度がより高値を示す対象者においても同様の結果が得られるか否かを検討する必要がある。第三に、本博士論文を構成する研究課題の中で、測定方法の限界点がいくつか存在する。本博士論文では、体組成の評価に DEXA 法およびインピーダンス法を用いた。それぞれの測定方法の妥当性は先行研究で報告されている (田中ら, 1999) とはいえ、限界点も多いことは明らかである。また、肥満男性に対し、研究課題 1,2 では写真法および記録法にて、研究課題 3 では食物摂取頻度調査表にて、食事内容を調査した。そのため、食事内容を過小評価している可能性があり、有酸素性運動介入群では、介入期間中に食事内容を変更しないよう指示しているが、アミノ酸濃度の変化が運動単独の影響であるとは言い切れない可能性もある。また、食習慣改善単独介入の前後で身体活動量の客観的評価を行うことができなかった。しかしながら、食習慣改善の介入期間中は食習慣以外の変更はしないよう指示をした。また、介入前後に身体活動量に関する主観的なアンケートを記入してもらい、介入前後で身体活動量に変化がなかったことは確認しているが、実際に身体活動量や体力が増えていないかを客観的指標 (活動量計や最高酸素摂取量の測定) を用いて評価していないため、今後の食習慣改善介入研究においては、研究成果が食習慣改善そのものの影響であることを客観的に示すためにも身体活動量の評価を行う必要がある。最後に、本博士論文では、肥満者における減量が血中アミノ酸濃度に及ぼす影響を検討することを目的としていたため、先行研究において減量効果が認められている有酸

素性運動を選択し研究を行なった。研究課題 2、3 では、筋量に着目して検討を行なったが、レジスタンストレーニングを併用して筋量を増加させた場合の検討は行なっていない。肥満者における血中アミノ酸濃度の影響を検討するためには、今後の運動介入研究において、レジスタンストレーニングの効果も検討していく必要がある。

今後、本研究の結果を一般化するためには、ランダム化比較試験などエビデンスレベルの高い研究デザインを用いた検討や、様々な対象者における検討（例えば、若年肥満者、高齢肥満者、肥満女性、2 型糖尿病患者など）、様々な運動形態による検討を行う必要がある。

## 第 8 章 結論

本研究では、肥満男性を対象とした 3 つの研究課題の結果から、以下の結論を得た。

肥満男性における食習慣改善および有酸素性運動の併用により、9 種のアミノ酸の血中濃度が低下し、6 種のアミノ酸の血中濃度が上昇した。また、血中 BCAA 濃度および血中 3-HIB 濃度の低下には、食習慣改善よりも有酸素性運動が効果的であることを示した。これらのことから、減量を目的とした食習慣改善および有酸素性運動を併用した生活習慣改善により血中アミノ酸濃度は変動すること、血中 BCAA 濃度および血中 3-HIB 濃度の低下には、減量による体タンパク質分解が少ない有酸素性運動が効果的であることを示唆した。本研究にて得られた知見は、肥満予防・改善に対する食事療法・運動療法の新たな知見となるであろう。

## 謝辞

本研究を終えるにあたり、多くのご指導・ご助言を賜りました指導教員である筑波大学体育系教授・前田清司先生に厚く御礼申し上げます。また、副指導教員である筑波大学体育系准教授・渡部厚一先生、筑波大学体育系准教授・中田由夫先生、専攻外副査として様々なアドバイスを頂いた筑波大学体育系准教授・麻見直美先生に心より感謝申し上げます。また、共同研究を快諾していただき、論文作成に関するご指導・ご助言を賜りました筑波大学体育系名誉教授・田中喜代次先生に心より感謝申し上げます。

実験の準備から論文作成に至るまで、多大なるご指導およびご協力を親切丁寧に賜りました流通経済大学スポーツ健康科学部・吉川徹助教、順天堂大学研究員・熊谷仁博士、京都薬科大学・棚橋嵩一郎助教、流通経済大学スポーツ科学部・膳法（宮木）亜沙子講師、Institute of Sports & Arts Convergence, Inha University・崔英珠氏、東京医科大学茨城医療センター・宮崎照雄講師、東京医科大学茨城医療センター・本多彰教授に厚く御礼申し上げます。また、博士課程の3年間、共に楽しい事、つらい事を共有し、支え合った朴ジョン氏にも心より感謝いたします。本研究のデータは、筑波大学にて開催された減量教室および運動教室において収集されたデータが含まれたものであり、共同研究を快諾していただき、減量教室や運動教室の運営を主導してくださいました島根大学人間科学部・辻本健彦講師、労働安全衛生総合研究所研究員・蘇リナ博士、国立健康・栄養研究所研究員・水島諒子博士をはじめ、田中研究室の皆様にも心より感謝申し上げます。さらに、実験を遂行する上で、多大なるご協力をいただいた筑波大学前田研究室の皆様にも深く感謝申し上げます。そして、3ヶ月の減量教室および運動教室に参加し、早朝からの測定に快くご協力いただきました多くの被験者の皆様にも深く感謝いたします。

最後に、研究活動に従事することを快諾し、私生活で絶えず暖かく見守ってくれた家族に心より感謝の意を表します。

## 参考文献

- Abbasi F, Brown BW Jr, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM. (2002). Relationship between obesity, insulin resistance, and coronary heart disease risk. *J Am Coll Cardiol* 40(5):937-43.
- Andersson-Hall U, Gustavsson C, Pedersen A, Malmödin D, Joelsson L, Holmäng A. (2018). Higher concentrations of BCAAs and 3-HIB are associated with insulin resistance in the transition from gestational diabetes to type 2 diabetes. *J Diabetes Res* 2018:4207067.
- Badoud F, Lam KP, DiBattista A, Perreault M, Zulyniak MA, Cattrysse B, Stephenson S, Britz-McKibbin P, Mutch DM. (2014). Serum and adipose tissue amino acid homeostasis in the metabolically healthy obese. *J Proteome Res* 13(7):3455-66.
- Balkau B, Deanfield JE, Després JP, Bassand JP, Fox KA, Smith SC Jr, Barter P, Tan CE, Van Gaal L, Wittchen HU, Massien C, Haffner SM. (2007). International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity (IDEA): A study of waist circumference, cardiovascular disease, and diabetes mellitus in 168,000 primary care patients in 63 countries. *Circulation* 116(17):1942-51.
- Chan JM, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. (1994). Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care* 17(9), 961–969.
- Chang SH, Stoll CR, Song J, Varela JE, Eagon CJ, Colditz GA. (2014). The effectiveness and risks of bariatric surgery: An updated systematic review and meta-analysis, 2003-2012.

*JAMA Surg* 149(3):275-87.

Chevalier S, Burgess SC, Malloy CR, Gougeon R, Marliss EB, and Morais JA. (2006) The greater contribution of gluconeogenesis to glucose production in obesity is related to increased whole-body protein catabolism. *Diabetes* 55 (3): 675–681.

Crowe MJ, Weatherson JN, Bowden BF. (2006). Effects of dietary leucine supplementation on exercise performance. *Eur J Appl Physiol.* 97(6):664-72.

Dalton M, Cameron AJ, Zimmet PZ, Shaw JE, Jolley D, Dunstan DW, Welborn TA; AusDiab Steering Committee. (2003). Waist circumference, waist-hip ratio and body mass index and their correlation with cardiovascular disease risk factors in Australian adults. *J Intern Med* 254(6):555-63.

DeFronzo RA. (1988) Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37: 667–687.

DeFronzo RA, and Matsuda M. (2010) Reduced time points to calculate the composite index. *Diabetes Care* 33: e93.

Felig P, Owen OE, Wahren J, Cahill GF Jr. (1969). Amino acid metabolism during prolonged starvation. *J Clin Invest* 48(3):584-94.

Ferguson AA, Roy S, Kormanik KN, Kim Y, Dumas KJ, Ritov VB, Matern D, Hu PJ, Fisher AL.



(2013). TATN-1 mutations reveal a novel role for tyrosine as a metabolic signal that influences developmental decisions and longevity in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet* 9(12):e1004020.

Fukutake N, Ueno M, Hiraoka N, Shimada K, Shiraishi K, Saruki N, Ito T, Yamakado M, Ono N, Imaizumi A, Kikuchi S, Yamamoto H, Katayama K. (2015). A novel multivariate index for pancreatic cancer detection based on the plasma free amino acid profile. *PLoS One* 10(7):e0132223.

Glynn EL, Piner LW, Huffman KM, Slentz CA, Elliot-Penry L, AbouAssi H, White PJ, Bain JR, Muehlbauer MJ, Ilkayeva OR, Stevens RD, Porter Starr KN, Bales CW, Volpi E, Brosnan MJ, Trimmer JK, Rolph TP, Newgard CB, Kraus WE. (2015). Impact of combined resistance and aerobic exercise training on branched-chain amino acid turnover, glycine metabolism and insulin sensitivity in overweight humans. *Diabetologia* 58(10), 2324–2335.

Hamano T, Shiotani Y, Takeda M, Abe T, Sundquist K, Nabika T. (2017). Is the effect of body mass index on hypertension modified by the elevation? A cross-sectional study of rural areas in Japan. *Int J Environ Res Public Health* 14(9). pii: E1022.

Hamman RF, Wing RR, Edelstein SL, Lachin JM, Bray GA, Delahanty L, Hoskin M, Kriska AM, Mayer-Davis EJ, Pi-Sunyer X, Regensteiner J, Venditti B, Wylie-Rosett J. (2006). Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes. *Diabetes Care* 29(9):2102-7.

Hatazawa Y, Tadaishi M, Nagaike Y, Morita A, Ogawa Y, Ezaki O, Takai-Igarashi T, Kitaura Y, Shimomura Y, Kamei Y, Miura S. (2014). PGC-1 $\alpha$ -mediated branched-chain amino acid metabolism in the skeletal muscle. *PLoS One* 9(3):e91006.

Haufe S, Engeli S, Kaminski J, Witt H, Rein D, Kamlage B, Utz W, Fuhrmann JC, Haas V, Mähler A, Schulz-Menger J, Luft FC, Boschmann M, Jordan J. (2017). Branched-chain amino acid catabolism rather than amino acids plasma concentrations is associated with diet-induced changes in insulin resistance in overweight to obese individuals. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 27(10):858-864.

Hellmuth C, Kirchberg FF, Lass N, Harder U, Peissner W, Koletzko B, Reinehr T. (2016). Tyrosine is associated with insulin resistance in longitudinal metabolomic profiling of obese children. *J Diabetes Res* 2016:2108909.

Hong SY, Yang DH, Chang SK. (1998). The relationship between plasma homocysteine and amino acid concentrations in patients with end-stage renal disease. *J Ren Nutr* 8(1):34-9.

Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. (1983). Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: A 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 67(5), 968–977.

Jang C, Oh SF, Wada S, Rowe GC, Liu L, Chan MC, Rhee J, Hoshino A, Kim B, Ibrahim A, Baca LG, Kim E, Ghosh CC, Parikh SM, Jiang A, Chu Q, Forman DE, Lecker SH, Krishnaiah

- S, Rabinowitz JD, Weljie AM, Baur JA, Kasper DL, Arany Z. (2016). A branched-chain amino acid metabolite drives vascular fatty acid transport and causes insulin resistance. *Nat Med* 22(4):421-6.
- Kamamura M, Nishijima K, Takahashi M, Ando T, Mizushima S, Tochikubo O. (2010). Lifestyle modification in metabolic syndrome and associated changes in plasma amino acid profiles. *Circ J* 74(11):2434-40.
- Kato H, Suzuki H, Mimura M, Inoue Y, Sugita M, Suzuki K, Kobayashi H. (2015). Leucine-enriched essential amino acids attenuate muscle soreness and improve muscle protein synthesis after eccentric contractions in rats. *Amino Acids* 47(6), 1193–1201.
- Kim B, Tsujimoto T, So R, Zhao X, Oh S, Tanaka K. (2017). Changes in muscle strength after diet-induced weight reduction in adult men with obesity: A prospective study. *Diabetes Metab Syndr Obes: Targets and Therapy*, 10: 187–194.
- Kim JY, Park JY, Kim OY, Ham BM, Kim HJ, Kwon DY, Jang Y, Lee JH. (2010). Metabolic profiling of plasma in overweight/obese and lean men using ultra performance liquid chromatography and Q-TOF mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS). *J Proteome Res* 9(9):4368-75.
- King DS, Baldus PJ, Sharp RL, Kesl LD, Feltmeyer TL, Riddle MS. (1995) Time course for exercise-induced alterations in insulin action and glucose tolerance in middle-aged people. *J Appl Physiol (1985)* 78(1): 17-22.

Kumagai H, Zempo-Miyaki A, Yoshikawa T, Eto M, So R, Tsujimoto T, Nishiyasu T, Tanaka K, Maeda S. (2018). Which cytokine is the most related to weight loss-induced decrease in arterial stiffness in overweight and obese men? *Endocr J* 65(1):53-61.

Kumagai H, Zempo-Miyaki A, Yoshikawa T, Tsujimoto T, Tanaka K, Maeda S. (2016) Increased physical activity has a greater effect than reduced energy intake on lifestyle modification-induced increase in testosterone. *J Clin Biochem Nutr* 58: 84-89, 2016.

LaFerrère B, Reilly D, Arias S, Swerdlow N, Gorroochurn P, Bawa B, Bose M, Teixeira J, Stevens RD, Wenner BR, Bain JR, Muehlbauer MJ, Haqq A, Lien L, Shah SH, Svetkey LP, Newgard CB. (2011). Differential metabolic impact of gastric bypass surgery versus dietary intervention in obese diabetic subjects despite identical weight loss. *Sci Transl Med* 3(80):80re2.

Lamon-Fava S, Wilson PW, and Schaefer EJ. (1996) Impact of body mass index on coronary heart disease risk factors in men and women. The Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16 (12) 1509-15

Lips MA, Van Klinken JB, van Harmelen V, Dharuri HK, 't Hoen PA, Laros JF, van Ommen GJ, Janssen IM, Van Ramshorst B, Van Wagenveld BA, Swank DJ, Van Dielen F, Dane A, Harms A, Vreeken R, Hankemeier T, Smit JW, Pijl H, Willems van Dijk K. (2014). Roux-en-Y gastric bypass surgery, but not calorie restriction, reduces plasma branched-chain amino acids in obese women independent of weight loss or the presence of type 2 diabetes.

*Diabetes Care* 37(12):3150-6.

Liu L, Zhang Y, Chen N, Shi X, Tsang B, Yu YH. (2007). Upregulation of myocellular DGAT1 augments triglyceride synthesis in skeletal muscle and protects against fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 117(6):1679-89.

Lynch CJ, Adams SH. (2014). Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol* 10(12):723-36.

Maeda S, Zempo-Miyaki A, Sasai H, Tsujimoto T, So R, Tanaka K. (2015). Lifestyle modification decreases arterial stiffness in overweight and obese men: dietary modification vs. exercise training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 25(1):69-77.

Magkos F, Bradley D, Schweitzer GG, Finck BN, Eagon JC, Ilkayeva O, Newgard CB, Klein S. (2013). Effect of Roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic adjustable gastric banding on branched-chain amino acid metabolism. *Diabetes* 62(8):2757-61.

Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, Speizer FE, Hennekens CH. (1990). A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 322(13):882-9.

Mardinoglu A, Gogg S, Lotta LA, Stančáková A, Nerstedt A, Boren J, Blüher M, Ferrannini E, Langenberg C, Wareham NJ, Laakso M, Smith U. (2018). Elevated plasma levels of 3-hydroxyisobutyric acid are associated with incident type 2 diabetes. *EBioMedicine* 27,

151–155.

Mâsse LC, Fuemmeler BF, Anderson CB, Matthews CE, Trost SG, Catellier DJ, and Treuth M. (2005) Accelerometer data reduction: a comparison of four reduction algorithms on select outcome variables. *Med Sci Sports Exerc* 37(11 Suppl): S544-54.

Matsuda M, and DeFronzo RA. (1999) Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 22: 1462-1470.

Matsuzawa Y, Funahashi T, and Nakamura T. (2011) The concept of metabolic syndrome: contribution of visceral fat accumulation and its molecular mechanism. *J Atheroscler Thromb* 18 (8): 629-39.

Mero A. (1999). Leucine supplementation and intensive training. *Sports Med* 27(6):347-58.

Miyagi Y, Higashiyama M, Gochi A, Akaike M, Ishikawa T, Miura T, Saruki N, Bando E, Kimura H, Imamura F, Moriyama M, Ikeda I, Chiba A, Oshita F, Imaizumi A, Yamamoto H, Miyano H, Horimoto K, Tochikubo O, Mitsushima T, Yamakado M, Okamoto N. (2011). Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection. *PLoS One* 6(9):e24143.

Miyaki A (a), Maeda S, Yoshizawa M, Misono M, Saito Y, Sasai H, Kim MK, Nakata Y, Tanaka K, Ajisaka R. (2009). Effect of habitual aerobic exercise on body weight and arterial

function in overweight and obese men. *Am J Cardiol* 104(6):823-8.

Miyaki A (b), Maeda S, Yoshizawa M, Misono M, Saito Y, Sasai H, Endo T, Nakata Y, Tanaka K, Ajisaka R. (2009). Effect of weight reduction with dietary intervention on arterial distensibility and endothelial function in obese men. *Angiology* 60(3):351-7.

Miyawaki T, Hirata M, Moriyama K, Sasaki Y, Aono H, Saito N, Nakao K. (2005). Metabolic syndrome in Japanese diagnosed with visceral fat measurement by computed tomography. *Proc. Japan Acad Ser B* 81(10):471-479

Miyazaki T, Honda A, Ikegami T, Iwamoto J, Monma T, Hirayama T, Saito Y, Yamashita K, Matsuzaki Y. (2015). Simultaneous quantification of salivary 3-hydroxybutyrate, 3-hydroxyisobutyrate, 3-hydroxy-3-methylbutyrate, and 2-hydroxybutyrate as possible markers of amino acid and fatty acid catabolic pathways by LC-ESI-MS/MS. *Springerplus* 4:494.

Newgard CB, An J, Bain JR, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Lien LF, Haqq AM, Shah SH, Arlotto M, Slentz CA, Rochon J, Gallup D, Ilkayeva O, Wenner BR, Yancy WS Jr, Eisenson H, Musante G, Surwit RS, Millington DS, Butler MD, Svetkey LP. (2009). A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab* 9(4):311-26.

Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, Biryukov S, Abbafati C, Abera SF, Abraham JP, Abu-Rmeileh NM, Achoki T, AlBuhairan FS, Alemu

ZA, Alfonso R, Ali MK, Ali R, Guzman NA, Ammar W, Anwari P, Banerjee A, Barquera S, Basu S, Bennett DA, Bhutta Z, Blore J, Cabral N, Nonato IC, Chang JC, Chowdhury R, Courville KJ, Criqui MH, Cundiff DK, Dabhadkar KC, Dandona L, Davis A, Dayama A, Dharmaratne SD, Ding EL, Durrani AM, Esteghamati A, Farzadfar F, Fay DF, Feigin VL, Flaxman A, Forouzanfar MH, Goto A, Green MA, Gupta R, Hafezi-Nejad N, Hankey GJ, Harewood HC, Havmoeller R, Hay S, Hernandez L, Hussein A, Idrisov BT, Ikeda N, Islami F, Jahangir E, Jassal SK, Jee SH, Jeffreys M, Jonas JB, Kabagambe EK, Khalifa SE, Kengne AP, Khader YS, Khang YH, Kim D, Kimokoti RW, Kinge JM, Kokubo Y, Kosen S, Kwan G, Lai T, Leinsalu M, Li Y, Liang X, Liu S, Logroscino G, Lotufo PA, Lu Y, Ma J, Mainoo NK, Mensah GA, Merriman TR, Mokdad AH, Moschandreas J, Naghavi M, Naheed A, Nand D, Narayan KM, Nelson EL, Neuhaus ML, Nisar MI, Ohkubo T, Oti SO, Pedroza A, Prabhakaran D, Roy N, Sampson U, Seo H, Sepanlou SG, Shibuya K, Shiri R, Shiue I, Singh GM, Singh JA, Skirbekk V, Stapelberg NJ, Sturua L, Sykes BL, Tobias M, Tran BX, Trasande L, Toyoshima H, van de Vijver S, Vasankari TJ, Veerman JL, Velasquez-Melendez G, Vlassov VV, Vollset SE, Vos T, Wang C, Wang X, Weiderpass E, Werdecker A, Wright JL, Yang YC, Yatsuya H, Yoon J, Yoon SJ, Zhao Y, Zhou M, Zhu S, Lopez AD, Murray CJ, Gakidou E. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet* 384(9945), 766–781.

Nishioka M, Imaizumi A, Ando T, Tochikubo O. (2013). The overnight effect of dietary energy balance on postprandial plasma free amino acid (PFAA) profiles in Japanese adult men. *PLoS One* 8(5), e62929.



- Noguchi Y, Zhang QW, Sugimoto T, Furuhashi Y, Sakai R, Mori M, Takahashi M, Kimura T. (2006) Network analysis of plasma and tissue amino acids and the generation of an amino index for potential diagnostic use. *Am J Clin Nutr* 83(2):513S-519S.
- Nogusa Y, Mizugaki A, Hirabayashi-Osada Y, Furuta C, Ohyama K, Suzuki K, Kobayashi H. (2014). Combined supplementation of carbohydrate, alanine, and proline is effective in maintaining blood glucose and increasing endurance performance during long-term exercise in mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 60(3):188-93.
- Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, Cavan D, Shaw JE, Makaroff LE. (2017) IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract* 128:40-50.
- Ohkawara K, Oshima Y, Hikihara Y, Ishikawa-Takata K, Tabata I, and Tanaka S. (2011) Real-time estimation of daily physical activity intensity by a triaxial accelerometer and a gravity-removal classification algorithm. *Br J Nutr* 105(11): 1681-91.
- Oshima Y, Kawaguchi K, Tanaka S, Ohkawara K, Hikihara Y, Ishikawa-Takata K, and Tabata I. (2010) Classifying household and locomotive activities using a triaxial accelerometer. *Gait Posture* 31(3): 370-4.
- Park J, Choi Y, Myoenzono K, Yoshikawa T, Tagawa K, Isobe T, Saotome K, Sankai Y, Shimojo N, Maeda S. (2019) Effects of aerobic exercise training on the arterial stiffness and

intramyocellular or extramyocellular lipid in overweight and obese men. *Clin Exp Hypertens.* (in press)

Pedersen EB, Jørgensen ME, Pedersen MB, Siggaard C, Sørensen TB, Mulvad G, Hansen JC, Torstensen AM, Aagaard O, Skjoldborg H. (2006). Plasma amino acids in Greenlanders and Danes. Influence of seasons, residence, ethnicity, and diet. *Am J Hum Biol* 18(1):99-111.

Plauth M, Egberts EH, Abele R, Müller PH, Fürst P. (1990). Characteristic pattern of free amino acids in plasma and skeletal muscle in stable hepatic cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 37(1):135-9.

Poortmans JR, Brauman H, Staroukine M, Verniory A, Decaestecker C, Leclercq R. (1988). Indirect evidence of glomerular/tubular mixed-type postexercise proteinuria in healthy humans. *Am J Physiol* 254(2 Pt 2):F277-83.

Ra SG, Akazawa N, Choi Y, Matsubara T, Oikawa S, Kumagai H, Tanahashi K, Ohmori H, Maeda S. (2015). Taurine supplementation reduces eccentric exercise-induced delayed onset muscle soreness in young men. *Adv Exp Med Biol* 803:765-72.

Ra SG (a), Miyazaki T, Ishikura K, Nagayama H, Komine S, Nakata Y, Maeda S, Matsuzaki Y, Ohmori H. (2013) Combined effect of branched-chain amino acids and taurine supplementation on delayed onset muscle soreness and muscle damage in high-intensity eccentric exercise. *J Int Soc Sports Nutr* 10(1):51.

Ra SG (b), Miyazaki T, Ishikura K, Nagayama H, Suzuki T, Maeda S, Ito M, Matsuzaki Y, Ohmori H. (2013). Additional effects of taurine on the benefits of BCAA intake for the delayed-onset muscle soreness and muscle damage induced by high-intensity eccentric exercise. *Adv Exp Med Biol* 776:179-87.

Ra SG, Miyazaki T, Kojima R, Komine S, Ishikura K, Kawanaka K, Honda A, Matsuzaki Y, Ohmori H. (2018) Effect of BCAA supplement timing on exercise-induced muscle soreness and damage: a pilot placebo-controlled double-blind study. *J Sports Med Phys Fitness* 58(11):1582-1591.

Rashid MN, Fuentes F, Touchon RC, Wehner PS. (2003). Obesity and the risk for cardiovascular disease. *Prev Cardiol* 6(1):42-7.

Ross R, Janssen I, Dawson J, Kungl AM, Kuk JL, Wong SL, Nguyen-Duy TB, Lee S, Kilpatrick K, Hudson R. (2004). Exercise-induced reduction in obesity and insulin resistance in women: a randomized controlled trial. *Obes Res* 12(5):789-98.

Samuel VT, Petersen KF, and Shulman GI. (2010) Lipid-induced insulin resistance: unravelling the mechanism. *Lancet* 375(9733):2267-77.

Sakurai Y, Tamura Y, Takeno K, Kumashiro N, Sato F, Kakehi S, Ikeda S, Ogura Y, Saga N, Naito H, Katamoto S, Fujitani Y, Hirose T, Kawamori R, and Watada H. (2011) Determinants of intramyocellular lipid accumulation after dietary fat loading in non-obese men. *J*

*Diabetes Investig.* 2(4): 310-7.

She P, Olson KC, Kadota Y, Inukai A, Shimomura Y, Hoppel CL, Adams SH, Kawamata Y, Matsumoto H, Sakai R, Lang CH, Lynch CJ. (2013) Leucine and protein metabolism in obese Zucker rats. *PLoS One* 8(3):e59443.

She P, Van Horn C, Reid T, Hutson SM, Cooney RN, Lynch CJ. (2007). Obesity-related elevations in plasma leucine are associated with alterations in enzymes involved in branched-chain amino acid metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293(6):E1552-63.

Shimomura Y, Kobayashi H, Mawatari K, Akita K, Inaguma A, Watanabe S, Bajotto G, Sato J. (2009). Effects of squat exercise and branched-chain amino acid supplementation on plasma free amino acid concentrations in young women. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 55(3):288-91.

Shimomura Y, Murakami T, Nakai N, Nagasaki M, Harris RA. (2004). Exercise promotes BCAA catabolism: Effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during exercise. *J Nutr* 134(6 Suppl):1583S-1587S.

Shimomura Y, Yamamoto Y, Bajotto G, Sato J, Murakami T, Shimomura N, Kobayashi H, Mawatari K. (2006). Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. *J Nutr* 136(2):529S-532S.

Takahashi K, Yoshimura Y, Kaimoto T, Kunii D, Komatsu T, and Yamamoto S. (2001) Validation

of a food frequency questionnaire based on food groups for estimating individual nutrient intake. *Jpn J Nutr* 59 (5): 221-232.

Tajiri Y, Kato T, Nakayama H, Yamada K. (2010). Reduction of skeletal muscle, especially in lower limbs, in Japanese type 2 diabetic patients with insulin resistance and cardiovascular risk factors. *Metab Syndr Relat Disord* 8(2):137-42.

Tan HC, Khoo CM, Tan MZ, Kovalik JP, Ng AC, Eng AK, Lai OF, Ching JH, Tham KW, Pasupathy S. (2016). The Effects of sleeve gastrectomy and gastric bypass on branched-chain amino acid metabolism 1 year after bariatric surgery. *Obes Surg* 26(8):1830-5.

Tochikubo O, Nakamura H, Jinzu H, Nagao K, Yoshida H, Kageyama N, Miyano H. (2016). Weight loss is associated with plasma free amino acid alterations in subjects with metabolic syndrome. *Nutr Diabetes* 6:e197.

Troiano RP, Berrigan D, Dodd KW, Mâsse LC, Tilert T, McDowell M. (2008). Physical activity in the United States measured by accelerometer. *Med Sci Sports Exerc* 40(1):181-8.

Vazquez JA, Morse EL, Adibi SA. (1985). Effect of dietary fat, carbohydrate, and protein on branched-chain amino acid catabolism during caloric restriction. *J Clin Invest* 76(2):737-43.

Wahren J, Felig P, Cerasi E, and Luft R. (1972) Splanchnic and peripheral glucose and amino acid metabolism in diabetes mellitus. *J Clin Invest* 51(7): 1870-1878.

Waki K, Noda M, Sasaki S, Matsumura Y, Takahashi Y, Isogawa A, Ohashi Y, Kadowaki T, Tsugane S; JPHC Study Group. (2005). Alcohol consumption and other risk factors for self-reported diabetes among middle-aged Japanese: A population-based prospective study in the JPHC study cohort I. *Diabet Med* 22(3):323-31.

Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, Lewis GD, Fox CS, Jacques PF, Fernandez C, O'Donnell CJ, Carr SA, Mootha VK, Florez JC, Souza A, Melander O, Clish CB, Gerszten RE. (2011). Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med* 17(4):448-53.

Watanabe A, Higashi T, Sakata T, Nagashima H. (1984). Serum amino acid levels in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 54(9), 1875–1882.

Watson P, Shirreffs SM, Maughan RJ. (2004). The effect of acute branched-chain amino acid supplementation on prolonged exercise capacity in a warm environment. *Eur J Appl Physiol* 93(3):306-14.

Weinlich G, Murr C, Richardsen L, Winkler C, Fuchs D. (2007). Decreased serum tryptophan concentration predicts poor prognosis in malignant melanoma patients. *Dermatology* 214(1):8-14.

Xie G, Ma X, Zhao A, Wang C, Zhang Y, Nieman D, Nicholson JK, Jia W, Bao Y, Jia W. (2014). The metabolite profiles of the obese population are gender-dependent. *J Proteome Res*

3(9):4062-73.

Yamada C, Kondo M, Kishimoto N, Shibata T, Nagai Y, Imanishi T, Oroguchi T, Ishii N, Nishizaki Y. (2015). Association between insulin resistance and plasma amino acid profile in non-diabetic Japanese subjects. *J Diabetes Investig* 6(4):408-15.

Yamakado M, Tanaka T, Nagao K, Ishizaka Y, Mitushima T, Tani M, Toda A, Toda E, Okada M, Miyano H, Yamamoto H. (2012). Plasma amino acid profile is associated with visceral fat accumulation in obese Japanese subjects. *Clin Obes* 2(1-2):29-40.

Yamakado M, Nagao K, Imaizumi A, Tani M, Toda A, Tanaka T, Jinzu H, Miyano H, Yamamoto H, Daimon T, Horimoto K, Ishizaka Y. (2015). Plasma free amino acid profiles predict four-year risk of developing diabetes, metabolic syndrome, dyslipidemia and hypertension in Japanese population. *Sci Rep* 5:11918.

Zhang C, Rexrode KM, van Dam RM, Li TY, Hu FB. (2008). Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: Sixteen years of follow-up in US women. *Circulation* 117(13):1658-67.

Zhang Q, Takahashi M, Noguchi Y, Sugimoto T, Kimura T, Okumura A, Ishikawa T, Kakumu S. (2006). Plasma amino acid profiles applied for diagnosis of advanced liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection. *Hepatol Res* 34(3):170-7.

Zheng Y, Ceglarek U, Huang T, Li L, Rood J, Ryan DH, Bray GA, Sacks FM, Schwarzfuchs D,

Thiery J, Shai I, Qi L. (2016). Weight-loss diets and 2-y changes in circulating amino acids in 2 randomized intervention trials. *Am J Clin Nutr* 103(2):505-11.

Zhou Y, Qiu L, Xiao Q, Wang Y, Meng X, Xu R, Wang S, Na R. (2013). Obesity and diabetes related plasma amino acid alterations. *Clin Biochem* 46(15):1447-52.

香川芳子, (編集). (2002) 五訂版 食品 80 キロカロリーガイドブック. 女子栄養大学出版部

亀井康富, 小川佳宏. (2015) 骨格筋からみた糖尿病の病態と治療. *月刊糖尿病* 7(1):1-7

公衆衛生審議会. 生活習慣病に着目した疾病対策の基本的方向性について (意見具申).  
栄養学雑誌 1997; 55 (5):285-290.

厚生労働省. (2005) 平成 17 年国民健康栄養調査.

<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou07/01.html>

厚生労働省. (2012) 平成 24 年国民健康・栄養調査.

<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/h24-houkoku.html>

厚生労働省. 平成 26 年国民健康・栄養調査. 2014.

<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/h26-houkoku.html>

厚生労働省. (2017) 平成 29 年度国民健康・栄養調査.



<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/h29-houkoku.html>

厚生労働省科学研究：津下班. (2011) 生活習慣病予防活動・疾病管理による健康指針に及ぼす効果と医療費適正化効果に関する研究：平成 23 年度報告書.

笹井浩行, 片山靖富, 沼尾成晴, 中田由夫, 田中喜代次. (2008) 中年肥満男性における運動実践が内臓脂肪に及ぼす影響：食事改善との比較. 体力科学. 57 (1): 89-100

下村吉治. (2012) 総説 分岐鎖アミノ酸代謝の調節機構. 日本栄養・食糧学会誌 65(3):97-103

下村吉治, 北浦靖之. (2014) スポーツ医学的観点からのアミノ酸機能 分岐鎖アミノ酸 (BCAA) を中心として. 化学と生物 52(3): 143-144.

食品成分研究会（編集）. (2005) 五訂増補 日本食品成分表. 医歯薬出版

膳法（宮木）亜沙子, 蘇リナ, 熊谷仁, 田中喜代次, 下條信威, 前田清司. (2014) 肥満男性における食事改善、有酸素性運動、食事改善と有酸素性運動の併用が中心および末梢動脈スティフネスに与える影響. 体力科学 63: 333-341.

田中喜代次, 金憲経, 中西とも子, 天貝均. (1999) 多周波数インピーダンス法による日本人の身体組成の評価. 日本運動生理学会誌 6 (1): 37-45.

辻本健彦, 蘇リナ, 金甫建, 加藤千晶, 小林奈美, 鈴木駿, 田中喜代次. (2014) 肥満男

性における生活習慣介入に伴う低強度身体活動時間の増加はインスリン抵抗性を改善させる. *体力科学* 63(4):415-23.

朽久保修. (2010) アミノ酸と生活習慣病 最新アミノグラムで探る「いのち」の科学. 女子栄養大学出版部.

日本糖尿病学会. (2013) *糖尿病治療ガイドライン*.

日本肥満学会. (2005) *肥満症治療ガイドライン 2013*.

日本肥満学会肥満症診断基準検討委員会. (2011) 肥満症の診断基準 2011. *肥満研* 17: 9-10.

日本肥満学会. (2016) *肥満症治療ガイドライン 2016*.

中村直登. (2009) 総説 糖尿病の原因. *京府医大誌* 118(7), 447-452, 2009.

福井智康, 平野勉. (2005) インスリン抵抗性と糖代謝. *昭和医学会雑誌* 65(2):120-126.

三浦克之 (研究代表者). (2012) 2010 年国民健康栄養調査対象者の追跡開始 (NIPPON DATA 2010) と NIPPON DATA 80/NIPPON DATA 90 の追跡継続に関する研究: 平成 24 年総括・分担研究報告書.

メタボリックシンドローム診断基準検討委員会. (2005) *メタボリックシンドロームの*

定義と診断基準. *日本内科学会雑誌* (94)794-809.

山下進. (2007) タンパク異化指標としての血中 3-メチルヒスチジン; 基準値および重度  
侵襲患者値の推移. *山口医学* 56(6):193-200